

Aus dem II. Anatomischen Institut
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Willy Schwarz

Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Follikelentstehung in den Gonadenanlagen von Mäuseembryonen

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Petra Schaletzke
aus Berlin

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546603_0059

Aus dem II. Anatomischen Institut
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Willy Schwarz

Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Follikelentstehung in den Gonadenanlagen von Mäuseembryonen

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Petra Schaletzke
aus Berlin

Referent: Prof. Dr. Hans-Joachim Merker

Koreferent: Prof. Dr. W. Schwarz



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am 26. Februar 1976

Inhaltsverzeichnis

I.	Einleitung	S. 4
II.	Material und Methoden	S. 9
III.	Lichtmikroskopische Befunde	S. 11
IV.	Elektronenmikroskopische Befunde ...	S. 13
V.	Diskussion	S. 18
VI.	Zusammenfassung	S. 22
VII.	Literatur	S. 24

Einleitung

Durch viele Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß die sog. Urkeimzellen einen extragonadalen Ursprung haben (Lit. siehe EVERETT 1943, STIEVE 1927, BRAMBELL 1927, FISCHER 1930, WITSCHI 1948, 1962, GRUENWALD 1942, NIEUWKOOP 1949, WILLIER 1951, WATZKA 1961, DUBOIS 1968, FALIN 1969) und durch eine der amöboiden Bewegung ähnliche Wanderung in die Gonadenanlage gelangen.

Bei der Maus findet man die Urkeimzellen am 8. Fetaltag im Dottersackepithel nahe der Allantoisanlage mit einer engen Beziehung zum kaudalen Entoderm. Am 9. bis 10. Tag liegen sie im mittleren Entoderm und im dorsalen Mesenterium, am 10. bis 11. Tag haben sie die Gonadenanlage erreicht und wandern zusammen mit den proliferierenden Coelomepithelien in das Gonadenmesenchym ein. Die sich ausbildenden Epithelzellbalken beim Manne oder Epithelhaufen bei der Frau erlauben dann bereits ab 12. Tag eine Erkennung des Gonadengeschlechts.

Das dorsale Mesenterium enthält Stromazellen und Blutgefäße und ist mit einer einschichtigen Lage von Mesothelzellen bedeckt, die sich beidseits nach lateral auf die Gonadenanlage erstreckt. Diese Gonadenanlage springt als longitudinale Leiste beidseits der Mittellinie an der medianen Seite der plica urogenitalis zwischen Urniere und dem dorsalen Mesenterium in die Coelomhöhle vor. Das Mesothel, das sie bedeckt, wird auch Keim- oder Coelomepithel genannt (CHIQUEINE 1954, SPIEGELMAN and BENNETT 1973, ZAMBONI and MERCHANT 1973).

Die Ausbildung dieser Genitalleiste ist unabhängig von der Anwesenheit der Urkeimzellen. Die weitere Entwicklung der Gonade - also auch die Differenzierung in männlich oder weiblich - wird aber dann durch die eingewanderten Urkeimzellen bestimmt (BOUNOURE 1950).

Mit dem Coelomepithel, das sich hier verdickt, wandern die Keimzellen in die Tiefe der Gonadenanlage. Gleichzeitig wachsen Bindegewebszellen aus der Mark- und Hilusregion der Gonadenanlage auf die Peripherie zu.

Die weitere Entwicklung ist bei männlichen und weiblichen Individuen unterschiedlich und soll im Folgenden nicht näher

beschrieben werden. Es sei nur erwähnt, daß sowohl die Follikelzellen und Thekazellen als auch die Sertoli- und Zwischenzellen des Hodens aus diesem Coelomepithel entstehen (BENOIT 1923, GROPP and OHNO 1966).

Bevor elektronenmikroskopische Untersuchungen möglich waren, wurden die Urkeimzellen mit Hilfe ihrer hohen Aktivität der alkalischen Phosphatase identifiziert. Seit elektronenmikroskopische Befunde vorliegen, konnten genauere Einblicke in die Morphologie dieser Zellen gewonnen werden und Unterschiede zu den umgebenden somatischen Zellen herausgearbeitet werden (ODOR and BLANDAU 1969, ZAMBONI 1970, ZAMBONI and MERCHANT 1973, SPIEGELMAN and BENNETT 1973).

Die wandernden Urkeimzellen sind groß und tragen viele pseudopodienartige Fortsätze, die Mikrofilamente enthalten - ein Zeichen ihrer amöboiden Beweglichkeit. Der Kern ist rund, hell und enthält fein granuliertes, gleichmäßig verteiltes Chromatin und ein oder zwei prominente Nukleoli. Das Zytoplasma besitzt viele freie Ribosomen und Polysomen, weshalb es im Lichtmikroskop stark basophil erscheint. Sonst enthält es wenig Organellen, insbesondere wenige Mitochondrien mit kurzen, wenig geordneten inneren Membranstrukturen und wenig Endoplasmatisches Retikulum. Einige Zisternen dieses Endoplasmatischen Retikulums stehen auf der einen Seite mit Ausstülpungen des perinukleären Raums in Verbindung, auf der anderen Seite mit dem Extrazellulärraum. Das wird als Zeichen eines intensiven Stoffaustausches mit der Umgebung während dieser Periode angesehen.

Haben die Urkeimzellen die Gonadenanlage erreicht, verlieren sie die Zeichen der amöboiden Beweglichkeit, also die Pseudopodien, auch die Ausstülpungen des perinukleären Raumes verschwinden. Sie erscheinen jetzt groß, rund, tragen aber sonst die Merkmale der unreifen Zellen, enthalten unter anderem also weiterhin wenig Zellorganellen. Im Vergleich zu den Zellen des Coelomepithels, das mit ihnen in die Gonadenanlage einwächst, sind sie weniger elektronendicht. Die epithelialen Zellen sind länglich, besitzen einen stark gekerbten Kern mit grob zusammengeballtem Chromatin. Das Zytoplasma enthält viele gut differenzierte Organellen, besonders

Mitochondrien und Endoplasmatisches Retikulum. Zwischen den Urkeimzellen selbst und zwischen Urkeimzellen und epithelialen Zellen werden enge räumliche Verbindungen beschrieben.

Bei der Durchmusterung der Literatur fällt auf, daß außer den behandelten frühen Stadien der Keimzellentwicklung vergleichsweise wenig elektronenmikroskopische Arbeiten, z.B. zum Problem der Follikelbildung, Auswanderung der Follikel- und Thekazellen sowie der Stromareifung, vorliegen. Die dann folgenden Stadien, beim weiblichen Geschlecht z.B. das Stadium des bereits fertigen Primordialfollikels, haben dagegen das Interesse der Elektronenmikroskopiker sehr viel mehr gefunden. Hier liegt eine Fülle von Publikationen vor, die - da sie das eigentliche Thema der Arbeit nicht betreffen - hier nicht näher berücksichtigt werden sollen.

Zur Vervollständigung der Literaturangaben sei nur auf einige zusammenfassende Publikationen verwiesen:

STEGNER und WARTENBERG 1963, STEGNER 1967, WEAKLEY 1967, ODOR and BLANDAU 1969, ZAMBONI 1970.

Es ist für die Beurteilung der Gonadenreifung, vor allem aber für die Erfassung der hier angreifenden embryotoxischen- und teratogenen Substanzen, sehr wichtig, den Zeitpunkt der Differenzierung des Gesamtorgans und der einzelnen Zelltypen zu kennen. Nur dann werden Experimente sinnvoll geplant und erhaltene Befunde genügend gedeutet werden.

Zweifellos besteht aber auf dem Gebiet der Frühstadien eine Fülle von Problemen, die noch nicht gelöst sind und morphologisch besonders mit dem Elektronenmikroskop angreifbar wären. Hier ist vor allem das große Gebiet des strukturellen Verhaltens der epithelialen Mesodermabkömmlinge zu nennen. Bisher ist noch nicht der Versuch unternommen worden, das morphologische Substrat der prospektiven Potenz bei diesen Zellen, d.h. die bereits früh - kurz nach dem Auswandern aus dem Coelomepithel - einsetzende Differenzierung, zu untersuchen. Aus diesen Coelomepithelzellen entstehen später nicht nur die Hüllzellen der Keimzellen (Follikelepithel- bzw. Sertolizellen), sondern auch steroidproduzierende Zellen und Zellen, die zur Produktion von Interzellulärsubstanz in der

Lage sind (GROPP and OHNO 1966, WATZKA 1961).

Das Verhalten der Zelloberflächen, die Kontakte zwischen den Zellen und die epithelio-mesenchymale Interaktion sind bei den vorliegenden elektronenmikroskopischen Darstellungen dieser Stadien und der Diskussion der Befunde noch nicht in genügendem Maße berücksichtigt worden.

Ohne Zweifel muß sich aber das Permeabilitätsverhalten der Hüllzellen und eine Permeabilitätsbarriere erst ausbilden. Solche Permeabilitätsbarrieren lassen sich aber elektronenmikroskopisch am Kontaktverhalten der Zellen darstellen (LOEWENSTEIN 1972, WIRSCHING 1971, M'NUTT and WEINSTEIN 1970). Hier im Gonadenbereich wären besonders die Keimzell-Epithelzell- und die Epithelzell-Epithelzellkontakte besonders interessant. Hierbei ist zu berücksichtigen, daß spezialisierte Zellkontakte, z.B. zonulae occludentes, gap junctions und close contacts zwar den Flüssigkeitstransport nicht völlig unterbinden, ihn aber sehr erschweren und der Kontrolle der angrenzenden Zellen aussetzen. Außerdem spielen neben den Transportvorgängen entlang der Zellmembran auch solche Transportvorgänge eine wichtige Rolle, die senkrecht dazu verlaufen. Bei den Zellkontakten, die einen Interzellularspalt von geringerer Breite als 100 Å haben, kann angenommen werden, daß niedermolekulare Substanzen über die Kontaktstelle penetrieren. Solche Vorgänge könnten wichtig für Erregungsleitung, Induktionsauslösungen, Ernährung usw. sein. Tatsächlich sind in den postnatalen Follikeln diese Kontaktstellen zwischen Follikelzellen und Eizellen nachgewiesen und auch funktionell in diesem Sinne gedeutet worden. Bei den Follikelzell-Follikelzellkontakten lassen sich ebenfalls spezialisierte Formen nachweisen. Hier muß eine abdichtende Funktion gegen die Umgebung angenommen werden. Möglicherweise hat die Veränderung des Kontaktverhaltens eine Bedeutung für die Auslösung oder aber Verhinderung der Reifungsprozesse (MERKER 1975). Die Kenntnis der Kontakte und ihrer Entwicklung sind also zur Beurteilung der Follikel- und Eizellreifung von großer Bedeutung.

Darüber hinaus scheint für die Kontrolle und das Ausmaß

- -

von Permeabilitäts- und Stofftransportvorgängen, möglicherweise auch für die Differenzierung des Eizell-Follikelsystems die Ausbildung einer definierten Epithel-Bindegewebsgrenze von Bedeutung zu sein. Hier spielt die Basalmembran und die Reifung der Interzellulärsubstanz eine wesentliche Rolle.

Bei der Betrachtung dieses Problems können Erfahrungen benutzt werden, die an anderen Geweben und Basalmembranen anderer Lokalisation gewonnen wurden. Es können zwei Hauptfunktionen herausgestellt werden:

1. Eine Funktion als Permeabilitätsbarriere. Dazu sind die meisten Befunde an den Basalmembranen der Nierenglomerula erhoben worden (v. BRUCHHAUSEN und MERKER 1965/66/67, GEKLE und MERKER 1966). Durch das Netzwerk der kollagenen Filamente entsteht ein Gitterwerk, dessen Maschen die Porengröße des Filters bestimmen. Dieser Aufbau aus Makromolekülen prägt auch die weitere Funktion:

2. Die mechanische Funktion. Die Basalmembran soll nach diesen Resultaten als Mikroskelett wirken. Diese Eigenschaft könnte zur Zusammenfassung der verschiedenen Zellen zum Follikel wichtig sein. Die Bedeutung der übrigen Strukturen des mesenchymalen oder später bindegewebigen Interzellularraumes ist wenig übersichtlich. Ob neben der mechanischen Bedeutung noch andere Aufgaben diesen Strukturen zuzuordnen sind, ist nicht bekannt (zusammenfassende Lit. siehe MERKER 1974).

In der folgenden Arbeit soll deshalb die Feinstruktur der Gonadenanlage in den frühen Stadien, d.h. nach dem Einwandern der Keimzellen und während des Einwanderens der Coelomepithelzellen untersucht werden. Wir wählten die Maus als Versuchstier, da sie nicht nur in unserer Arbeitsgruppe für teratogene und embryotoxische Untersuchungen weit verbreitete Anwendung findet. Neben einer deskriptiven Darstellung der Keimzellen und der Reifung der Follikel als Ganzes während dieser Stadien sollen die Zellkontakte zwischen den verschiedenen Zelltypen, die Differenzierung dieser Zelltypen und die Entwicklung einer Epithel-Mesenchymgrenze besonders beachtet werden.

Material und Methoden

Für die folgenden Untersuchungen wurden Mäuse eines NMRI-Inzuchtstamms verwendet, die in temperatur- und feuchtigkeitsgeregelten Räumen gehalten wurden.

Die Begattung erfolgte im Oestrus zwischen 7.30 und 9.30. Da um 8.00 Uhr 80% der Weibchen spermienpositiv sind, wird 8.00 Uhr als Zeitpunkt 0 und als Schwangerschaftsbeginn gewertet. Die folgenden 24 Stunden entsprechen dem Tag 0.

Für diese Arbeit wurden Mäuseembryonen der Tage 11, 12, 13, 14 und 15 verwendet. Nach Dekapitation der Muttertiere und Schnittentbindung erfolgte die sofortige Fixierung der Embryonen in toto, mit Ausnahme der Tage 14 und 15, an denen die Embryonen kranial der hinteren Extremitäten durchtrennt wurden.

Zur lichtmikroskopischen Untersuchung erfolgte die Fixierung in Carnoyscher Lösung (Gemisch aus 60% Alkohol, 30% Chloroform, 10% Eisessig) und die Einbettung in Paraplast. Es wurden Serienschnitte in Quer- und Längsrichtung angefertigt, und mit Hämalauneosin (HE), Perjod-Acid-Schiff's-Agens (PAS) angefärbt.

Die lichtmikroskopischen Aufnahmen wurden mit einem Zeiss-Photomikroskop angefertigt.

Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden die Embryonen in einer modifizierten Karnovsky'schen Lösung fixiert (3% destilliertes Glutaraldehyd, 3% Paraformaldehyd in 0,1 M Cacodylatpuffer pH 7,2). Nach mehrmaligem Waschen schließt sich die Nachfixierung in gepuffertem (Cacodylatpuffer, pH 7,2) 1% Osmiumtetroxyd an. Nach stufenweiser Entwässerung in der Acetonreihe erfolgte die Einbettung in Mikropal (=Vestopal der Firma Ferak, Berlin).

Zur Orientierung im Einbettungsblock wurden sog. Semidickschnitte (1/2 bis 1 u Dicke) angefertigt, die nach Färbung mit alkalischer GiemsaLösung bei 60°C im Lichtmikroskop gut zu beurteilen waren. So wurde die entsprechende Ebene für die elektronenmikroskopische Untersuchung herausgefunden. Die Dünnschnitte wurden dann mit LKB-Ultratomen hergestellt und mit Uranylacetat und Bleicitrat nachkontrastiert.

Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden mit dem Siemens Elmiskop I und Ia bei einer Strahlspannung von 80 kV (Blenden 200/50 μ) und einer Primärvergrößerung von 1000 bis 40 000 durchgeführt. Die Auswertung erfolgte an 3 1/2 fachen Nachvergrößerungen auf Papier.

Lichtmikroskopische Befunde (Abb.1-4)

Die lichtmikroskopischen Befunde seien an Hand von Längs- oder Querschnitten durch Mäuseembryonen der Tage 11, 12, 13 und 14 in Höhe der plica urogenitalis kranial der hinteren Extremität dargestellt.

Tag 11: Die plica urogenitalis ist bereits voll ausgebildet und nach ventral in die Coelomhöhle vorgewachsen. Sie liegt als longitudinale Leiste beidseits der Medianlinie zwischen der Urniere und dem dorsalen Mesenterium. In ihrem medialen Bereich entwickelt sich die Gonadenanlage durch Verdickung des Coelomepithels, dessen Zellen hier kubisch werden, während sich das übrige Coelomepithel abplattet. In diesem verdickten Bereich wird das Coelomepithel Keimepithel genannt. Gleichzeitig verdichtet sich das darunterliegende Mesenchym. Urniere und Keimdrüsenanlage bilden so das Innere der Urogenitalfalte, die durch das Urogenitalmesenterium mit der hinteren Leibeswand verbunden ist. Dorsomedial der Gonadenanlage liegen die Urnierenkanälchen, dorsolateral der Wolffsche Gang. Das zentrale, mit Erythrozyten gefüllte Gefäß ist die Aorta, lateral von ihr liegen zu beiden Seiten die Vv. cardinales.

Die Urkeimzellen, die am 11. Tag die Gonadenanlage erreicht haben, sind groß, rund, und liegen einzeln oder in Gruppen zusammengeschlossen. Sie enthalten einen großen, runden, stark angefärbten Nukleolus. Das Zytoplasma ist hell. Sie sind so gegenüber den epithelialen Zellen gut abgrenzbar, die sich infolge ihres reichen Gehaltes an Zellorganellen stark anfärben.

Während die plica urogenitalis sich über viele Segmente erstreckt, entwickeln sich die Gonaden in den nun folgenden Tagen nur im Bereich von 3 bis 4 Segmenten progressiv. Sie wachsen nach ventral stark in die Coelomhöhle vor und überflügeln die Urniere. Dadurch vertiefen sich die Einschnitte dorsomedial gegen die Rumpfwand, dorsolateral gegen die Urniere und es entsteht ein Mesenterium-ähnliches Segel.

Am Tag 12 kann die männliche von der weiblichen Gonade histologisch unterschieden werden. Während bis zu diesem

- 1 -

Zeitpunkt strangförmige Epithelmassen, die die Keimzellen enthalten, vom Coelomepithel in die Tiefe wachsen, zerfallen vereinzelt diese Epithelverbände in abgegrenzte Haufen. Solche Haufen können mehrere Keimzellen enthalten. Die Gliederung in isolierte Haufen und eine angedeutete schalenförmige Lagerung der Epithelzellen um die Keimzellen herum wird dann immer deutlicher. Bei männlichen Embryonen bleibt dagegen der strangförmige Charakter der Epithelverbände erhalten. Sie bilden sich schnell in typische Epithelschläuche um. Dieses Bild ist bereits am Tag 14 deutlich ausgeprägt (Abb. 4).

Es muß hier kritisch vermerkt werden, daß diese Verhältnisse im lichtmikroskopischen Bild häufig nicht eindeutig dargestellt werden können. Die Zellbesiedlung ist dann so dicht unterhalb des Epithels, daß die gesamte Falte mit Epithelzellen ausgefüllt erscheint und Einzelheiten nicht mehr zum Ausdruck kommen. In den Abb. 1 bis 3 sind solche Bilder aus laufenden Schnittserien verwendet.

Deutlich zum Ausdruck kommen im lichtmikroskopischen Bild die stellenweise Abgrenzung gegen das subepitheliale Gewebe oder aber - auf weiten Strecken - die kontinuierliche Fortsetzung des Epithelverbandes bis in die Tiefe der Gonadenanlage. Im Bereich die Keimzellen selbst ist in diesem Vergrößerungsabschnitt eine deutliche Beziehung zwischen Keimzelle und Follikelepithel bzw. Follikelepithel und umgebendem Mesenchym nicht sicher nachweisbar.

Elektronenmikroskopische Befunde (Abb.5-19)

Es soll bei der folgenden Beschreibung der morphologischen Verhältnisse in der Gonadenanlage am Tag 11 keine Rücksicht auf das Geschlecht genommen werden. Ab Tag 12 gelingt es mit Hilfe der sog. Semidickschnitte Hinweise für eine Geschlechtsbestimmung zu erhalten. Ab Tag 12 beziehen sich die Resultate also nur auf weibliche Gonaden.

Darüberhinaus interessieren in dieser Arbeit nur die Follikel und ihre Vorläufer, also Coelomepithel, Epithelstränge, die davon ausgehen, Keimzellen und die räumlichen Beziehungen dieser verschiedenen Zelltypen sowie die Epithel-Bindegewebsgrenze.

Tag 11 (Abb.5, 6, 9-11)

In der Umgebung der Keimzellen läßt sich ein dichtgepackter Epithelverband nachweisen, in dem keine deutlichen oder höchstens nur sehr kleine Interzellularräume vorkommen. Die Keimzellen selbst imponieren zu diesem Zeitpunkt auch elektronenmikroskopisch noch nicht so deutlich wie an den späteren Tagen. Immerhin zeigen sie bei günstiger Schnittführung eine Größe, die die der benachbarten Epithelzellen übertrifft, einen großen, aufgelockerten Kern und Mitochondrien, die etwas größer sind als die der Epithelzellen und vorwiegend eine runde Form haben. Besonders auffällig ist das Vorkommen von doppelten Membranstrukturen im Kern, die parallel verlaufen und morphologisch völlig mit der Kernmembran übereinstimmen. Sie beginnen auch häufig an der Kernmembran und ziehen in das Karyoplasma hinein. Bereits zu diesem Zeitpunkt kann eine räumliche Orientierung der Epithelzellen in unmittelbarer Umgebung der Keimzellen zu diesen Zellen festgestellt werden. Sie umgeben häufig schalenartig die Keimzellen in halbmondförmiger Gestalt. Der Kern der Zellen paßt sich dieser Form an. Er ist oval oder sogar langgestreckt. Häufig zeigt er aber Unregelmäßigkeiten im Verlauf der Kernmembran in Form von kleinen Ein- oder Ausbuchtungen. Diese Epithelzellen in der Nähe der Keimzellen enthalten in großen Cytoplasmabereichen freie Ribosomen, die in Form von Polysomen gruppiert sind. Die Mitochondrien sind im Gegensatz zu denen

der Eizellen kleiner, gestreckter und dichter. Kleine Hohlräume des Rauhen Endoplasmatischen Retikulums und ein kleiner Golgi-Apparat können angeschnitten sein. Die räumlichen Kontaktverhältnisse zu den Keimzellen sind außerordentlich eng. Die beiden Zellmembranen verlaufen auf langen Strecken ohne jede Unregelmäßigkeiten parallel zueinander. Ihr Abstand wechselt. Im Höchstfall beträgt aber die Weite des Interzellularraumes nur 300 Å. Häufig nähern sie sich bis auf 100 Å oder stellenweise sogar noch weiter. Es bestehen also zwischen Epithelzellen und Eizellen "close contacts" oder "gap junctions". Interzellularräume an der Berührungsstelle der beiden Zellen, in die bei den typischen Primärfollikeln Mikrovilli hineinragen oder die durch die Mikrovilli bedingt sind, lassen sich also nicht nachweisen. Zwischen den keimzellnahen Epithelzellen und auch zwischen den Epithelzellen, die weiter entfernt von den Keimzellen liegen, werden diese engen räumlichen Beziehungen ebenfalls beobachtet. Auch hier findet man den ausgeprägten parallelen Verlauf der Membranen mit den Abständen zwischen 50 Å ("close contacts" und "gap junctions") und 300 Å. Fortsätze sind nur vereinzelt nachweisbar.

Die an der Oberfläche der plica gelegenen Coelomepithelzellen zeigen mit den darunterliegenden Epithelzellen ebenfalls dieses sehr enge Kontaktverhalten, das weiter oben beschrieben wurde. Ihre Form ist kubisch, polygonal bis rund. An der Oberfläche zur Coelomhöhle hin sitzen ihnen in unregelmäßigen Abständen stummelförmige Fortsätze auf. Das elektronenmikroskopische Bild des Cytoplasmas unterscheidet sich nicht von den Verhältnissen der weiter tiefer liegenden Zellen. - Eine Basalmembran, längere Interzellularräume oder besondere Strukturen des Mesenchyms bzw. seines interzellulären Raumes lassen sich zu diesem Zeitpunkt an keiner Stelle nachweisen.

Fig. 1. (Abb. 7, 12, 13)

Zu diesem Zeitpunkt lassen sich in elektronenmikroskopischen Übersichtsaufnahmen im Bereich der Gonadenanlage deutlich locker gepackte mesenchymale Regionen und dichtgepackte Epithelverbände nachweisen. Allerdings ist diese dichte Packung bzw. das Kontaktverhalten nicht mit den Verhältnissen des

vorhergehenden Tages zu vergleichen. Zwischen den Epithelzellen verlaufen jetzt bis zu 1000 Å breite Interzellularräume, die sich nur an wenigen umschriebenen Stellen auf einen Spalt von weniger als 1000 Å verschmälern. Vereinzelt finden sich an diesen Stellen "gap junctions". Strukturen des mesenchymalen Interzellularraumes sind noch nicht sicher nachweisbar. Auch zwischen Follikelepithelzelle und Keimzelle haben sich jetzt Interzellularräume gebildet. Sie sind bis zu 2000 Å breit. Punktförmig nähern sich aber die Membranen der Zellen auf 100 Å und weniger. Teilweise verdichtet sich hier das Cytoplasma unterhalb der Zellmembran. Dadurch werden diese Stellen besonders herausgehoben (Abb.12).

Das Cytoplasmabild der Epithel- und Keimzellen hat sich wenig verändert. Die Zahl der Polysomen und die Packungsdichte der übrigen Organellen der Epithelzelle hat jedoch zugenommen, so daß sie - besonders bei niedriger Vergrößerung - häufig etwas dunkler aussehen als die Keimzellen. Als morphologisches Kennzeichen der Keimzellen können ihre Größe, der große, aufgelockerte Kern mit einem prägnanten Nukleolus und die vergleichsweise großen Mitochondrien angeführt werden. Besonders charakteristisch von diesem Zeitpunkt an ist das Vorkommen von kurzen Cristae, teilweise sogar Tubuli und Vesikeln in den Mitochondrien. Diese membranbegrenzten Hohlräume sind häufig etwas gebläht, so daß sie sich aus der dichten Matrix besonders deutlich hervorheben.

Durch die Gliederung der Gonadenanlage in epitheliale und mesenchymale Bezirke wird es zu diesem Zeitpunkt möglich, eine andere Zellbewegung vom Coelomepithel in das spätere Stroma der Gonade zu erfassen. Während bisher nur die massive Invasion kompakter Zellverbände, die kontinuierlich mit dem Coelomepithel zusammenhängen, beschrieben wurde, kann jetzt auch das Abtropfen einzelner Zellen aus dem Coelomepithel in die Tiefe beobachtet werden. Die Lösung dieser Zellen aus dem Epithelverband beginnt mit der Bildung eines plumpen Fortsatzes, der bis zu 3 µ lang sein kann. Die Basalmembran stört dabei nicht, da diese Grenzschicht in den Bereichen der Gonadenanlage bis zum Tag 14 unter dem Coelomepithel nicht nachgewiesen werden kann. Der Fortsatz ist zunächst weitge-

hend leer, nur einige Polysomen und kleine Vesikel sind nachweisbar. Dann fließen die übrigen Organellen in diesen Fortsatz ein, der dabei plumper wird. Schließlich folgt der Kern, und jetzt hängt die schon mit ihrem Hauptteil außerhalb des Epithelbereichs befindliche Zelle nur noch mit einem schmalen Ausläufer und mit "tight junction" verbunden in den eigentlichen Coelomepithelzellen. Wenn sich diese Verbindung noch löst, liegt die Zelle bereits deutlich im subepithelialen Mesenchym. Während diese Vorgänge an den Stellen nachweisbar sind, denen ein lockeres Mesenchym unterliegt, hat sich die elektronenmikroskopische Morphologie der Bezirke, von denen aus die epitheliale Proliferation ihren Ausgang nimmt, nicht wesentlich geändert.

Tag 13 (Abb.14-17)

Die morphologischen Unterschiede zwischen Keimzellen und den umhüllenden Follikelzellen sind noch deutlicher geworden. Sie bestehen in der dichteren Packung der Zellorganellen, besonders der Polysomen, in den Epithelzellen, dem helleren Cytoplasma und den runden, vesikelnhaltigen Mitochondrien der Keimzellen. Die Epithelzellen haben sich bereits abgeflacht. Häufig findet sich bei niedriger Vergrößerung bereits eine deutliche Abgrenzung gegenüber dem umgebenden lockeren Mesenchym durch weite Interzellularräume. Dadurch kommt schon an manchen Stellen eine Einschichtigkeit des Epithels zum Ausdruck. Obwohl die zusammenhängenden Epithelverbände in den weiblichen Gonaden jetzt schon vollständig verschwunden sind zugunsten der isolierten Ballen, gibt es doch noch sehr viele Epithelzellen in einem Ballen in mehrschichtiger Lagerung. Ein Ballen kann mehrere Keimzellen enthalten. Zwischen Keimzelle und Epithelzelle und auch zwischen den Epithelzellen kommen die bereits am Tag 12 beschriebenen Interzellularspalten bis zu $3000 \text{ \AA}$ Breite vor. Die Zahl der umschriebenen Kontakte zwischen Keimzellen und Epithelzellen ist eher geringer geworden. - Im Interzellularraum des Mesenchyms in der Umgebung der Ballen sind noch keine sicher beurteilbaren Strukturen, z.B. kollagene Filamente und Proteoglycangranula darzustellen. Allerdings treten an den Stellen, wo die Epithelzel-

len bereits deutlich eine einschichtige Abgrenzung der Keimzelle bilden, erste feine Filamente auf, die auf den Beginn einer Basalmembranbildung hinweisen könnten. An einer Stelle (Abb.16) konnte sogar schon in einiger Entfernung von der Zellmembran ein Filamentgewirr beobachtet werden. Hier muß es sich um kollagene Vorstufen handeln.

Tag 14 (Abb.18 und 19)

Zu diesem Zeitpunkt sind die keimzellhaltigen Epithelzellhau-
fen in der weiblichen Gonade klar vom umgebenden aufgelocker-
ten Mesenchym unterscheidbar. Die Epithelzellen enthalten
jetzt noch mehr Polysomen, erscheinen also auf Übersichtsbil-
dern dunkler. Die Zahl der Organellen, z.B. der Mitochondrien
und der Hohlräume des Endoplasmatischen Retikulums hat eher
zugenommen. Das elektronenmikroskopische Bild der Keimzellen
und das Kontaktverhalten zwischen den verschiedenen Zellen
hat sich gegenüber den vorhergehenden Tagen nicht verändert.
Um das jetzt deutlich flache Hüllepithel entwickelt sich eine
zarte Basalmembran, die an einzelnen Stellen (Abb.18) bereits
schon bei niedriger Vergrößerung nachweisbar ist. In den übr-
igen Interzellularräumen des Mesenchyms treten zunehmend kol-
lagene Filamente und Proteoglycanstrukturen auf.

Tag 15 (Abb. 8)

Hier soll nur kurz auf das Coelomepithel hingewiesen werden.
Nachdem bisher das Coelomepithel durch die massive Invasion
des Mesenchyms durch zusammenhängende Epithelverbände oder
durch Abtropfen von Einzelzellen nicht scharf vom darunter-
liegenden Gewebe abgrenzbar war, ist jetzt die Grenze deutlich
markiert. Auch eine Basalmembran, die bisher in den meisten
Bezirken fehlte, hat sich entwickelt und wirkt an dieser Ab-
grenzung mit. Die Keimzellen mit ihren umhüllenden Epithel-
zellen liegen relativ weit vom Epithel entfernt.

Diskussion

Aus diesen elektronenmikroskopischen Bildern geht hervor, daß bei den Mäuseembryonen am Tag 11 und 12, d.h. kurz nachdem die Urogenschlechtszellen in das Coelomepithel der Gonadenanlage eingewandert sind, eine massive Epithelinvasion vom Coelomepithel her stattfindet. Bereits jetzt zeigen Stellung und Form der keimzellnahen Epithelzellen schon einen gewissen morphologischen Hinweis auf ihre spätere Hüllfunktion. Eine Gliederung in Ballen erfolgt aber frühestens am Tag 12, deutlich sichtbar am Tag 13. An diesem, besonders aber am folgenden Tag, entwickeln sich typische Primordialfollikel mit flacher Epithelzellohülle, die sich deutlich vom umgebenden Mesenchym abgrenzen. Eine Basalmembran ist frühestens am Tag 14 auszumachen. Neben diesen Epithelmassen, die vom Coelomepithel her kommend das Stroma der Gonadenanlage besiedeln, findet sich noch ein weiterer Einwanderungstyp: einzelne Zellen, die sich aus dem Coelomepithel lösen und in das Gonadenmesenchym einwandern.

Bei der Entstehung der Gonaden spielen also Zellbewegungen und Zellwanderungen vom Coelomepithel in das darunterliegende Gewebe eine wesentliche Rolle. Das gilt sowohl für die eigentlichen Keimzellen, die aus dem sog. Keimepithel erst sekundär in die Tiefe gelangen (SPIEGELMAN and BENNETT 1973, WITSCHI 1948, ZAMBONI and MERCHANT 1973), als auch für die verschiedenen anderen zellulären Bestandteile (HEYK-COHNITZ 1975). Bei der eigentlichen Bewegung von Zellen, sei es im Sinne einer Fortbewegung oder aber einer Formänderung (Phagozytose) spielt ein kontraktiles System eine wesentliche Rolle (KEYSERLINGK 1968, 1969, 1970). Dabei stellt man sich vor, daß durch einen kontraktilen Mechanismus ein Teil des Cytoplasmas in neugebildete Fortsätze gepreßt wird, die sich dann in der neuen Umgebung über Adhäsionsvorgänge verankern. Die Form der Zellen, die sich aus dem oberflächlichen Verband des sog. Keimepithels lösen, mit ihren unterschiedlich geformten Fortsätzen und dem vereinzelt Vorkommen von Filamenten könnten für einen derartigen Mechanismus sprechen. Bei ande-

ren morphogenetischen Prozessen im Embryo, wie z.B. die Bildung des Neuralrohrs, des Linsenbläschens oder der Rathkeschen Tasche, wird darüberhinaus noch eine Beteiligung des mikrotubulären Systems diskutiert (HEIDEKRÜGER 1973, SEINSCH 1975, SCHAUBURG 1973). Dabei stellt man sich vor, daß durch ein Längenwachstum der mechanisch stabilen Mikrotubuli Zellfortsätze gebildet werden.

In unseren Bildern konnten wir aber ein derartiges mikrotubuläres System nicht nachweisen. Auch die Zahl der Mikrofilamente, die evtl. unter der Fixierung aus den Mikrotubuli entstehen, war relativ gering. Dieser Mechanismus dürfte deshalb bei der Auswanderung der Coelomzellen aus dem sog. Keimepithel in das darunterliegende Gonadenmesenchym keine Rolle spielen.

Auffällig ist auch das Verhalten der Basalmembran, die offenbar eine regulierende oder zumindest mechanisch bedeutsame Rolle spielt. Im Hinblick auf den Besiedlungsmodus und auf die prospektive Potenz der Zellen können drei Verhaltensweisen der Basalmembran unterschieden werden:

1. An den Stellen, die weder eine Epithelsprossung in die Tiefe noch eine isolierte Emigration aufweisen, liegt unterhalb des Coelomepithels bereits eine deutliche Basalmembran (HEYK-COHNITZ 1975). Es muß davon ausgegangen werden, daß die Basalmembran die Struktur des mesenchymalen Interzellularraumes ist, die sehr früh bereits im Zweikeimblattstadium auftritt (KLÖPPEL 1969).
2. Das Fehlen der Basalmembran unter bestimmten Bezirken des Coelom- bzw. Keimepithels an Stellen mit hoher Emigrationsaktivität kann deshalb in einem funktionellen Zusammenhang gesehen werden. An diesen Stellen würde die Basalmembran, die ohne Zweifel mechanische Eigenschaften hat (von BRUCHHAUSEN und MERKER 1965, 1967), das Auswandern von Zellen in das Mesenchym hinein stören. Hier tritt sie erst auf, wenn die Emigrationsvorgänge beendet sind, also etwa am späten Tag 14 bzw. am Tag 15 in unserem Material.
3. In den Bereichen, wo sich eine zusammenhängende Epithelproliferation in das Gonadenmesenchym hinein verschiebt,

läßt sich auf weiten Strecken an der Epithel-Bindegewebsgrenze keine subepitheliale Basalmembran nachweisen. Es kann davon ausgegangen werden, daß ein geordnetes Epithelwachstum nur dann möglich ist, wenn die Epithel-Bindegewebsgrenze durch eine Basalmembran abgesichert ist. Wachsen also Epithelzellen zusammenhängend in die Tiefe, so wird die enorme Oberflächenvergrößerung offenbar durch ständige Neuproduktion kompensiert. Als Beispiel sei das Epithelwachstum bei der Drüsenbildung oder bei der Zahn- bzw. Haarbildung erwähnt (HOLTFRETER 1968, BALDUS 1969, HESS 1973). Bei malignem Epithelwachstum dagegen ist der Aufbau und die Funktion der Basalmembran offenbar gestört, und man kann elektronenmikroskopisch Diskontinuitäten und Fragmentierungen der Basalmembran nachweisen (BUSCH und MERKER, 1968). Hier wächst dann das Epithel unkontrolliert in die Tiefe. Aus diesem morphologisch erfassbaren Basalmembranverhalten geht hervor, daß eine enge Abstimmung zwischen Epithel- und Basalmembranverhalten bestehen muß. Die gegenseitige Beeinflussung war bis vor kurzer Zeit nur schwierig vorstellbar, da angenommen wurde, daß die Basalmembran, weil sie im intrazellulären Raum liegt, von den Mesenchymzellen gebildet wird (KLÖPPEL 1969, LOW 1967). Neuere Befunde weisen aber darauf hin, daß Epithelzellen in der Lage sind, sowohl Kollagen als auch Proteoglycan zu synthetisieren. Unterstellt man, daß die Epithelzellen für die Bildung ihrer eigenen Basalmembran verantwortlich sind, so wäre es denkbar, daß sie bei Änderung ihrer Differenzierungsrichtung, z.B. bei der Vorbereitung zur Emigration, die Basalmembranbildung einstellen und dadurch die Voraussetzung zum Verlassen des Epithelverbandes selbst prägen (MERKER 1975). Das Kontaktverhalten zwischen den Keimzellen und Hüllzellen und der Hüllzellen untereinander scheint nicht, wie in späteren Reifungsstadien besonders ausgeprägt zu sein. Während enge räumliche Beziehungen mit tiefen Einstülpungen von Epithelzellfortsätzen und Ausbildung von speziellen Kontakten typisch für späte Primär- und Sekundärfollikel sind, finden sich im Untersuchungszeitraum ebenfalls Kontakte, die aber nicht sehr eindrucksvoll sind und an Zahl eher abnehmen. Sol-

che Kontakte sollen im Ovar geschlechtsreifer Individuen der Ernährung und Informationsübertragung dienen (STEGNER 1967, STEGNER und WARTENBERG 1961, 1963). Interessant scheint die Bedeutung der Kontakte zwischen den Hüllzellen bzw. Follikel-epithelzellen zu sein. In einigen Follikeln der geschlechtsreifen Tiere findet man lange und zahlreiche "tight junctions" zwischen diesen Zellen. In anderen Follikeln sind sie dagegen selten. FOOTE and THBAULT (1969), THIBAUT (1971) und MERKER et al. (1975) haben daraus geschlossen, daß die Hüllzellen als Permeabilitätsbarriere wirken, die einen Faktor, der die Eizellreifung hemmt, abschirmen. Isoliert man nämlich die Eizellen selbst aus den Primärfollikeln, so beenden sie nach etwa 24 bis 48 Stunden die erste Meiose. Derartige Vorgänge scheinen im embryonalen Ovar noch keine Rolle zu spielen, da ein entsprechendes morphologisches Substrat dort fehlt.

Hier soll kurz auf einen Nebenfund eingegangen werden, den wir in der Literatur noch nicht verankert fanden: Das Auftreten von Mitochondrien in den Keimzellen, die Vesikel und möglicherweise Tubuli enthalten. Die Entscheidung, ob Tubuli oder Vesikel hier vorkommen, kann nicht eindeutig gefällt werden, da Schnittserien, die eine dreidimensionale Rekonstruktion erlaubten, nicht vorliegen. Nach den bisherigen Befunden spielen aber Mitochondrien, die Tubuli bzw. Vesikel enthalten, eine Rolle bei der Synthese von Cholesterin und Steroiden (MERKER 1969). Ob diese Funktion auch hier zu unterstellen ist, kann nicht geklärt werden. Interessant ist aber dieser Befund im Zusammenhang mit der sehr frühen Differenzierung der männlichen Gonaden, deren Testosteron für viele morphogenetische Prozesse im Urogenitalbereich wichtig ist. Alle übrigen Zellen der Gonadenanlage zeigen keine morphologischen Zeichen einer Steroidsynthese in dem berücksichtigten Zeitraum (Tag 11 bis 15).

Zusammenfassung

Für die vorliegende Arbeit wurden Mäuseembryonen der Tage 11 bis 15 verwendet und die Gonadenanlagen elektronenmikroskopisch untersucht. Ab Tag 12 beziehen sich die Ergebnisse nur auf weibliche Gonaden.

Am Tag 11 werden die Keimzellen von einem dichtgepackten Epithelverband umgeben, in dem keine oder nur sehr kleine Interzellularräume vorkommen. Die Epithelzellen beginnen sich halbmondförmig um die Keimzellen anzuordnen, wobei die Kontaktverhältnisse noch außerordentlich eng sind. Die räumliche Beziehung der Epithelzellen zum Coelomepithel ist ebenfalls sehr eng, eine Basalmembran ist nirgends nachweisbar.

In den folgenden Tagen grenzen sich die Epithelverbände immer stärker gegen die mesenchymale Region ab und bilden eine flache Hülle um die Keimzellen. Außerdem entstehen zwischen den Epithelzellen und den Epithel- und Keimzellen Interzellularräume. Ab Tag 12 treten in den Keimzellen typische Mitochondrien mit membranbegrenzten, geblähten Hohlräumen auf. Auch läßt sich jetzt durch die Trennung der epithelialen von der mesenchymalen Region das Abtropfen von Zellen aus dem Coelomepithel in das darunterliegende Mesenchym beobachten, ein Vorgang, der möglich ist, da sich bis zum Tag 14 unter dem Coelomepithel noch keine Basalmembran gebildet hat.

Am Tag 13 sind die Epithelzellen bereits weiter abgeflacht und unterscheiden sich durch eine dichtere Packung der Zellorganellen stärker als bisher von den Keimzellen. Die Abgrenzung gegen das Mesenchym hat sich weiter verstärkt, es entstehen isolierte Ballen aus meist mehreren Keimzellen und oft noch mehrschichtiger Epithelzelllage. Wo die Epithelzellen schon einschichtig um die Keimzellen liegen, treten zum Mesenchym hin erste Filamente auf, die auf eine Basalmembranbildung hinweisen. Diese Basalmembran ist am Tag 14 deutlich nachweisbar. Am Tag 15 grenzt sich auch das Coelomepithel scharf gegen das daruntergelegene Gewebe ab, und es hat sich dort ebenfalls eine Basalmembran entwickelt.

Anhand dieser elektronenmikroskopischen Befunde wurden die Zellwanderungen vom Coelomepithel in das darunterliegende Ge-

webe und die Bedeutung der Basalmembran für diese Wanderung diskutiert. Es wurde die Vermutung geäußert, daß die Epithelzellen für die Bildung ihrer eigenen Basalmembran verantwortlich sind und so die Voraussetzung zum Verlassen einzelner Zellen aus ihrem Verband selbst bestimmen.

Literatur

- ADAMS, E.C. Studies on guinea pig oocytes
- HERTIG, A.T. I. Electron microscopic observations on the
development of cytoplasmic organelles in
oocytes of primordial and primary follicles
J. Cell Biol. 21, 397-427 (1967)
- BALDUS, A. Elektronenmikroskopische Untersuchungen
über die frühesten Differenzierungsphasen
der Zahnleiste bei der Ratte.
Inauguraldissertation an der FU Berlin, 1969
- BAKER, T.G. The fine structure of oogonia and oocytes
in human ovaries
J. Cell Sci., 2, 213 (1967)
- BENOIT, J. Sur l'origine des cellules interstitielles
dans le testicule du Coq domestique
C. R. Acad. Sci. (Paris), 177, 412-414, 1923
- BLANDAU, R.J. Observations on the movements of the living
primordial germ cells in the mouse
WHITE, B.
RUMERY, R.E. Fertil. Steril. 14, 482-489, (1963)
- BORUM, K. Oogenesis in the mouse
Exp. Cell Res. 24, 495 (1961)
- BOUNOURE, L. Sur le développement sexuel des glandes g6-
nitales de la grenouille en l'absence de
gonocytes
Arch. Anat. micr. Morph. exp. 39, 247-256, 1950
- BRAMBELL, F.W.R. The development and morphology of the go-
nads of the mouse.
Part I: The morphogenesis of the indiffe-
rent gonad and of the ovary
Proc. Roy. Soc. B, 101, 391-409 (1927)

- v.BRUCHHAUSEN
MERKER, H.J. Gewinnung und morphologische Charakterisierung einer Basalmembranfraktion aus der Nierenrinde der Ratte.
Naunyn-Schm. Arch. 251, 1-12 (1965)
- v.BRUCHHAUSEN
MERKER, H.J. Morphologische und chemische Eigenschaften isolierter Basalmembranen
IV.Symp.d.Ges.f.Nephrol., 2, 758/9 (1966)
- v.BRUCHHAUSEN
MERKER, H.J. Morphologischer und chemischer Aufbau isolierter Basalmembranen aus der Nierenrinde der Ratte
Histochemie, 8, 90-108 (1967)
- BUSCH, W.
MERKER, H.J. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an menschlichen Mammacarcinomen
Virch.Arch. 334, 356-371 (1968)
- CARLON, N.
STAHL, A. Les premiers stades du développement des gonads chez l'homme et les vertébrés supérieurs
Patho-Biol. 21, 8, 903 (1974)
- CHIUQUINE, A.D. The identification, origin and migration of the primordial germ cells in the mouse embryo
Anat. Rec. 118, 135 (1954)
- DUBOIS, R. La colonisation des ébauches gonadiques par les cellules germinales de l'embryon de Poulet, en culture in vitro
J.Embryol.exp.Morphol. 20, 2, 189-213 (1968)
- EVERETT, N.B. Observational and experimental evidences relating to the origin and differentiation of the definitive germ cells in mice
J.Exp.Zool. 92, 49-91 (1943)
- FALIN, L.I. The development of genital gland and the origin of germ cells in human embryogenesis
Acta Anat. (Basel) 72, 2, 195-232 (1969)

- FISCHER, A. Über die Entwicklung der Keimdrüsen des Menschen
Z.Anat.Entwickl.Gesch. 92, 34-72 (1930)
- FOOTE, W.C. Recherches experimentales sur la maturation in vitro des oocytes de truie de veau
THIBAUT, C. Am.Biol.anim.Bioch.Bioph.9, 329-349 (1969)
- FRANCHI, L.L. The development of the ovary and the process of oogenesis
MANDL, A.M. In "The Ovary", Vol.1, 1 (1962)
ZUCKERMAN, S. Academic Press, New York
- BEKLE, D. Neue Vorstellungen über Struktur und Funktion der glomerulären Basalmembran der Niere
MERKER, H.J. Klin. Wschr. 44, 1217-1224 (1966)
- GONDOS, B. Ultrastructure of the germinal epithelium during oogenesis in the rabbit
J. Exp. Zool. 172, 465 (1969)
- GONDOS, B. Ovarian development: The functional importance of germ cell interconnections
ZAMBONI, L. Fertil.Steril. 20, 176-189 (1969)
- GROPP, A. The presence of a common embryonic blastema for ovarian and testicular parenchymal (follicular, interstitial and tubular) cells in cattle, Bos Taurus
OHNO, S. Z.Zellforsch. 74, 505-528 (1966)
- GRUENWALD, P. The development of the sex cords in the gonads of man and mammals
Am. J. Anat. 70, 359-397 (1942)
- HEIDEKRÜGER, R. Die normale Entwicklung der Linse bei der Ratte des Stammes FW 68
Inaugural-Dissertation an der FU Berlin (1973)

- HERTIG, A.T.
ADAMS, E.C. Studies on the human oocyte and its follicles. I. Ultrastructural and histochemical observations on the primordial follicle stage.
J. Cell Biol. 34, 647 (1957)
- HESS, M. Die frühe Haarentwicklung bei Mäuseembryonen im licht- und elektronenmikroskopischen Bild
Inauguraldissertation an der FU Berlin (1973)
- HEYCK-COHNITZ Die Ultrastruktur des Coelomepithels verschiedener Lokalisationen bei Mäuse- und Hühnerembryonen
Inauguraldissertation an der FU Berlin (1975)
- HOLTFRETER, J. Mesenchyme and epithelia in inductive and morphogenetic processes
In: Epithelial-mesenchymal interactions (ed. by R.FLEISCHMAIER and R.E.BILLINGHAM)
The Williams and Wilkins Comp., Baltimore, 1968, 1-30
- JEON, K.W. Electron microscopic studies on primordial germ cells in early mouse embryos
Proc. 12th Ann.Meet.Soc.Cell Biol., 125a (1972)
- KEIBEL, F. Normentafeln zur Entwicklungsgeschichte der Wirbeltiere
Verlag Gustav Fischer, Jena 1937
- LANGMAN, J. Medizinische Embryologie
2.Auflage, 1970
Georg Thieme Verlag, Stuttgart

- KEYSERLINGK, D. Kontraktilität und Ultrastruktur glycerin-extrahierter Fibroblasten aus der Gewebekultur
Protoplasma 67, 391-406 (1969)
- KEYSERLINGK, D. Elektronenmikroskopische Untersuchungen am kontraktile System von kultivierten Fibroblasten
Vhdl.d.Anat.Ges.Erg.z.Bd.126 Anat.Anz. 537-540 (1970)
- KEYSERLINGK, D. Struktur und Funktion des kontraktile Systems in Thrombozyten
STRUWE, W.
Vhdl.Anat.Ges. 68, 823-827 (1975)
- KEYSERLINGK, D. Feinstruktur des kontraktile Systems in Fibroblasten
SCHWARZ
Naturwissensch. 55, 549 (1968)
- KLÖPPEL, I. Elektronenmikroskopische Untersuchungen über den Beginn der Basalmembran- und Filamentenbildung im Interzellularraum früher Hühnerembryonen
Inauguraldissertation an der FU Berlin, 1969
- LOW, F.N. Developing boundary (basement) membranes in the chick embryo
Anat. Rec. 159, 231-238 (1967)
- LOWENSTEIN, W.R. Communication through membrane junction
Arch. Intern. Med. 129, 299-305 (1972)
- MAHOWALD, A.P. Ultrastructure of 'germ plasm' in eggs
HENNEN, S. and embryos of *Rana pipiens*
Devl.Biol. 24, 37-53 (1971)
- MC'NUTT, N.S. The ultrastructure of the nexus. A correlated thin-section and freeze-deave study
WEINSTEIN, R.S.
J. Cell Biol. 47, 666-688 (1970)

- MERKER, H.J. Synthese, Wirkung und Abbau der Gestagene
im elektronenmikroskopischen Bild.
Hdb. exp. Pharmacol. Band XII
Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidel-
berg, 1969
- MERKER, H.J. Electron microscopic studies on the oocyte
ZIMMERMANN, B. maturation in cultures of juvenile rat
ovaries
Z.Zellforsch. 111, 364-378 (1970)
- MERKER, H.J. Die Bedeutung der Gewebekultur für die
Beurteilung von Reifungsprozessen im Ovar
Reisensburg-Symposium, im Druck 1975
- NIEUWKOOP, P.D. The present state of the problem of the
'Keimbahn' in the vertebrates
Experientia, 5, 308-312 (1949)
- ODOR, D.L. Electron microscopic studies of the histo-
genesis of the fetal and early postnatal
mouse ovaries
Anat. Rec. 157, 293 (1967)
- ODOR, D.L. Ultrastructural studies on fetal and
BLANDAU, R.J. early postnatal mouse ovaries.
I. Histogenesis and organogenesis
Am. J. Anat. 124, 163-186 (1969)
II. Cytodifferentiation
Am. J. Anat. 125, 177-216 (1969)
- SCHAUENBURG, C. Das elektronenmikroskopische Bild des
Ektoderms von Hühnerembryonen während der
Differenzierung zum Neuralepithel
Inauguraldissertation an der FU Berlin,
1973
- SEINSCH, W. Der Surface Code embryonaler Hohlräume
(Rathkesche Tasche und Neuralrohr) bei
der Maus.
Im Druck: Acta Anat. 1975

- SOTELO, R. An electron microscope study on the cytoplasmic and nuclear components of rat primary oocytes.
Zeitschr.f.Zellforsch. 50, 749 (1959)
- SOTELO, J.R. An electron microscope study of the rat ovum
PORTER, K.R. J.Biophys.Biochem.Cytol. 5, 327-341 (1959)
- SPIEGELMAN, M. A light and electron microscopic study of primordial germ cells in the early mouse embryo
J.Embryol.exp.Morphol. 30, 1,97-118 (1973)
- STAHL, A. Morphogenèse des cordons sexuels et signification de la zone medullaire de la gonade chez l'embryon de Poulet
CARLON, N. Acta Anat. 85, 248 (1973)
- STARCK Embryologie
3. Auflage 1975, Georg Thieme Verlag,Stutt.
- STEGNER, H.E. Die elektronenmikroskopische Struktur der Eizelle
Ergeb.n.Anat.Entw.Gesch. 39,1-113 (1967)
- STEGNER, H.E. Elektronenmikroskopische und histotopochemische Befunde an menschlichen Eizellen
WARTENBERG, H. Arch. f. Gyn. 196, 23-34 (1961)
- STEGNER, H.E. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Eizellen des Menschen in verschiedenen Stadien der Oogenese
WARTENBERG, H. Arch. f. Gyn. 199, 151-172 (1963)
- STIEVE, H. Die Entwicklung der Keimzellen und der Zwischenzellen in der Hodenanlage des Menschen. Ein Beitrag zur Keimbahnfrage.
Z. anat.-mikr. Forsch. 10, 225-285 (1927)

- SWIFT, C.H. Origin and early history of the primordial
 germ cells in the chick
 Amer. J. Anat. 15, 483-516 (1914)
- THIBAUT, C. Normal and abnormal fertilization in
 mammals
 Adv. in Biosci. 6, 63-86 (1971)
- WATZKA, M. Normale Entwicklungsgeschichte der Gonaden
 und der Geschlechtsgänge
 In: Die Intersexualität
 (Hrgs. C.Overzier, Georg Thieme Verl., Stutt.)
- WEAKLEY, B.S. Light and electron microscopy of develop-
 ing germ cells and follicle cells in
 the ovary of the golden hamster: twenty-
 four hours before birth to eight days
 post partum
 J. Anat. 101, 3, 435 (1967)
- WEAKLEY, B.S. Differentiation of the surface epithelium
 of the hamster ovary
 An electron microscopic study
 J. Anat. 105, 129 (1969)
- WILLIER, B.H. Sterile gonads and the problem of the
 origin of germ cells in the chick embryo
 In: Colloque sur la différenciation sexu-
 elle chez les vertébrés
 Ed. C.N.R.S., Paris, 87-91 (1951)
- WIRSCHING, W.R. Die morphologischen Veränderungen der
 Ratteneizelle während der Reifung im
 elektronenmikroskopischen Bild.
 Inauguraldissertation an der FU Berlin
 1971
- WITSCHI, E. Migration of the germ cells of human
 embryos from the yolk sac to the primitive
 gonadal folds
 Contr.Embr.Carn.Inst.Wash.32, 67 (1948)

- WITSCHI, E. Embryology of the ovary
In: The Ovary. Int.Acad.Path.Monogr.No 3
Williams and Wilkins Co. Baltimore
Chap. I, 3 -10 (1962)
- ZAMBONI, L. Fine structure of the human ovum in pro-
et.al. nuclear stage
J. Cell Biol. 30, 579 (1966)
- ZAMBONI, L. Ultrastructure of mammalian oocytes and
ova
Biol. of Reprod.,Suppl.2, 44-63 (1970)
- ZAMBONI, L. The fine morphology of mouse primordial
germ cells in extragonadal locations
Am. J. Anat. 137, 3, 299 (1973)

Abb. 1 (Tag 11)

A

Querschnitt durch einen Mäuseembryo des Tages 11 mit Neuralrohr (N), Aorta (A) und Coelomhöhle (x), von dorsal ragt die plica urogenitalis in die Coelomhöhle hinein (Pfeil).

Vergr. 1 : 2,5

B

Höhere Vergrößerung der linken plica urogenitalis mit der medial gelegenen Gonadenanlage aus dicht gepackten Zellen (I) und einigen Anschnitten von Tubuli der Mesonephrosanlage (II).

Vergr. 1 : 10

C

Höhere Vergrößerung der Gonadenanlage aus einem anderen Präparat mit einem kubischen, unruhigen Keimepithel (K), das teilweise deutlich (Pfeil) oder nicht (Pfeil mit Querbalken) vom darunterliegenden Raum abgegrenzt ist.

Vergr. 1 : 25

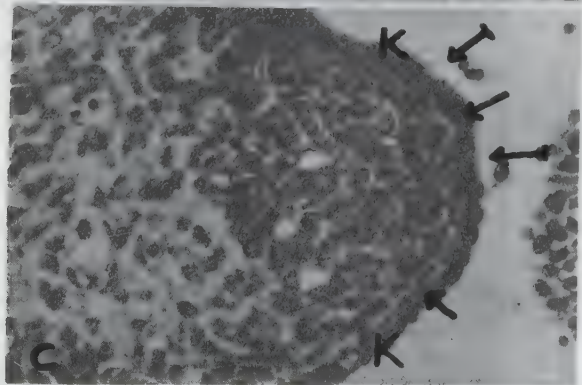
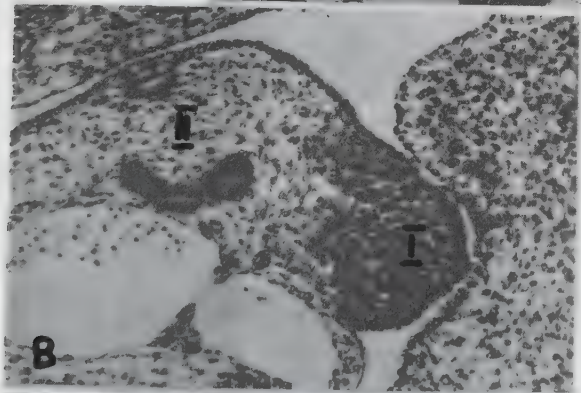
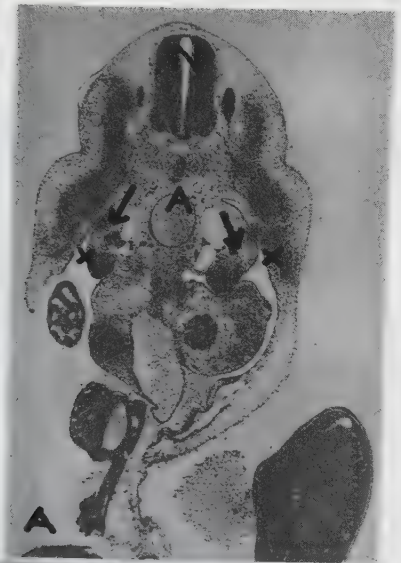


Abb. 2 (Tag 12)

A

Querschnitt durch einen Mäuseembryo des Tages 12 mit Neuralrohr (N), Coelomhöhle (x) und schräg angeschnittenen Gonadenanlagen (Pfeil).

Vergr. 1 : 2,5

B

Wie A nur im Längsschnitt mit entsprechend längs getroffener Gonadenanlage (Pfeil).

Vergr. 1 : 2,5

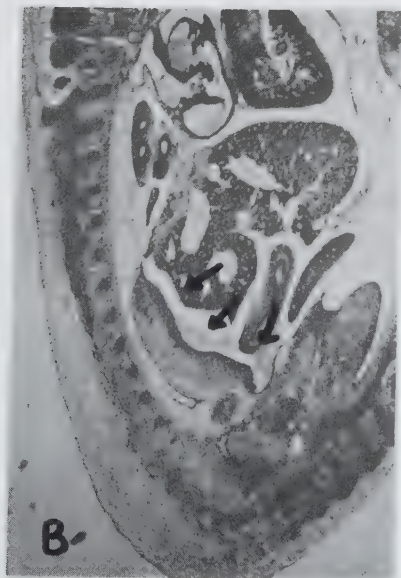


Abb. 3 (Tag 13)

A

Querschnitt durch einen Mäuseembryo des Tages 13
mit Neuralrohr (N), Nierenanlage (NA) und schräg
getroffener Gonadenanlage (Pfeil).

Vergr. 1 : 2,5

B und C

Höhere Vergrößerungen aus dem umrandeten Gebiet
in A.

I = Mesonephros

II = Gonadenanlage

L = Leber

Vergr. 1 : 10

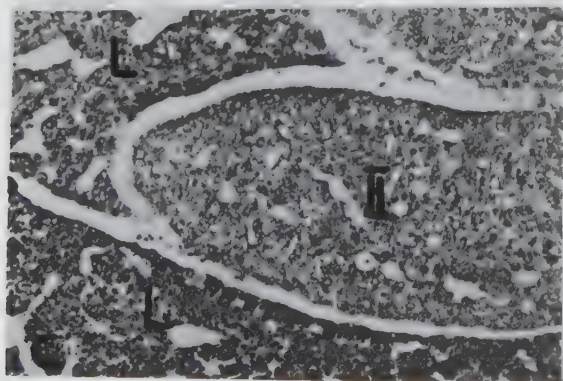
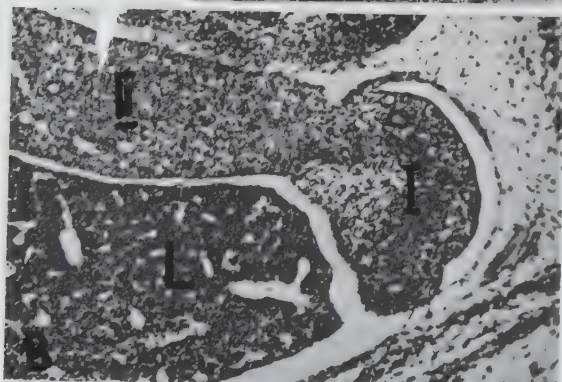


Abb. 4 (Tag 14)

A

Querschnitt durch einen männlichen Embryo des Tages 14 mit männlichen Gonaden (G), Magen (M), Darm (D), Leber (L).

Vergr. 1 : 2,5

B

Höhere Vergrößerung aus A (1 : 10)

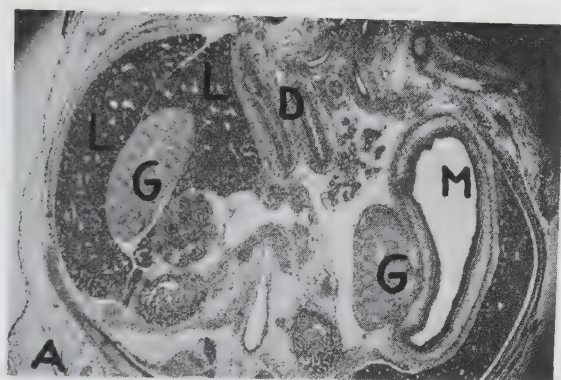


Abb. 5

Embryo Tag 11

Übersicht vom Coelomepithel und den darunterliegenden Zellen im Gonadenbereich. Massives Einwachsen eines epithel-ähnlichen Zellverbandes in die Tiefe. Enge Kontakte der Zellen untereinander.

• = Coelomhöhle

C = eigentliches Coelomepithel

KZ = Keimzellen im Epithelverband

N = Nuklei des Epithelverbandes

Vergr. 1 : 6000

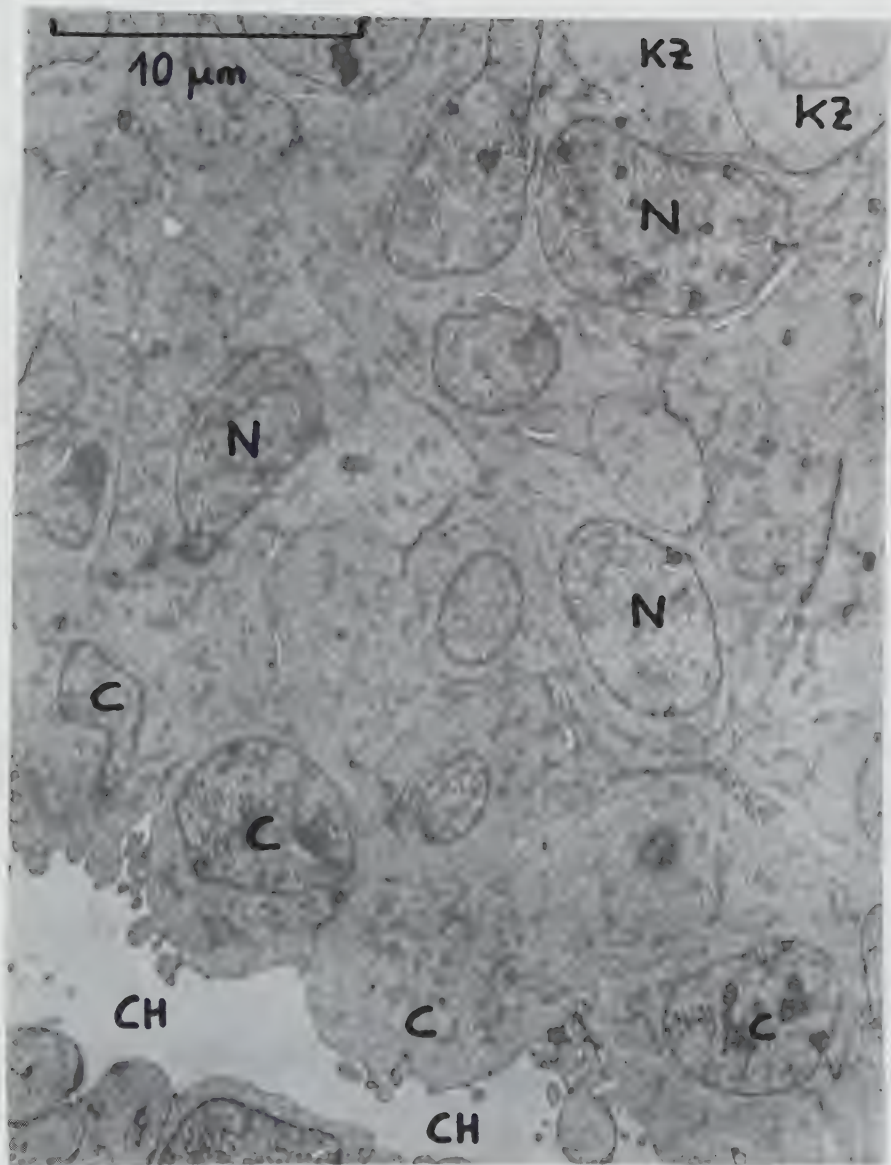


Abb. 6

Embryo Tag 11

Wie Abb. 5. Um eine angeschnittene Keimzelle (KZ) bereits schalenförmig epithelzellähnliche Zellen gelagert (EZ). Enger Kontakt zwischen und zu den übrigen Zellen, die ohne Grenze bis zum Coelom-epithel (C) reichen.

H = Coelomhöhle

N = Nuklei des Epithelverbandes

Vergr. 1 : 6000

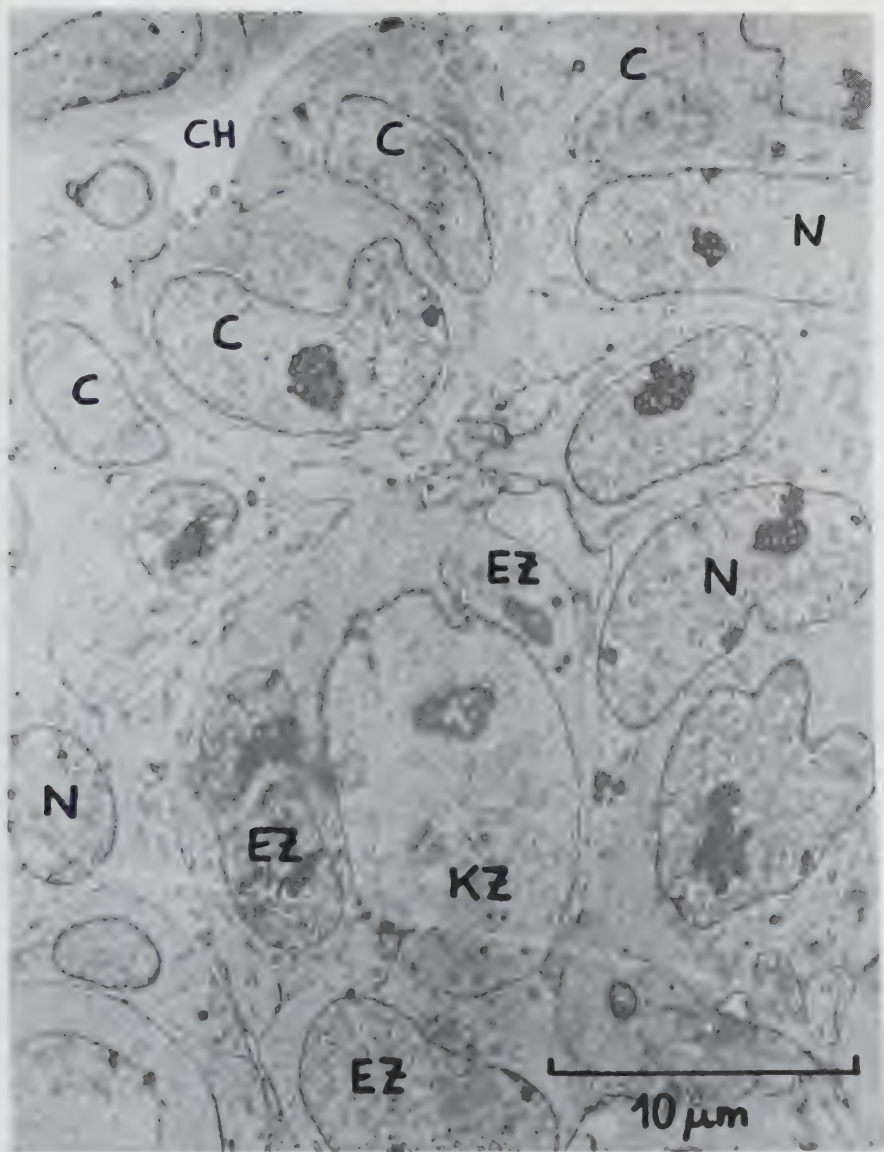


Abb. 7

Embryo Tag 12

Coelomepithel (C) im Bereich der Gonaden.

Coelomzelle (*), die sich mit einem langgestreckten Fortsatz (Pfeil) in das darunterliegende Mesenchym erstreckt.

CH = Coelomhöhle

Vergr. 1 : 2500



Abb. 8

Embryo Tag 15

Klar vom subepithelialen Mesenchym (M) abgrenzbares Coelomepithel (C) mit beginnender Basalmembranbildung (Pfeil). Im subepithelialen Bereich noch dichtgepackte epithelähnliche Zellen (E).

K = Kapillare

Vergr. 1 : 2000

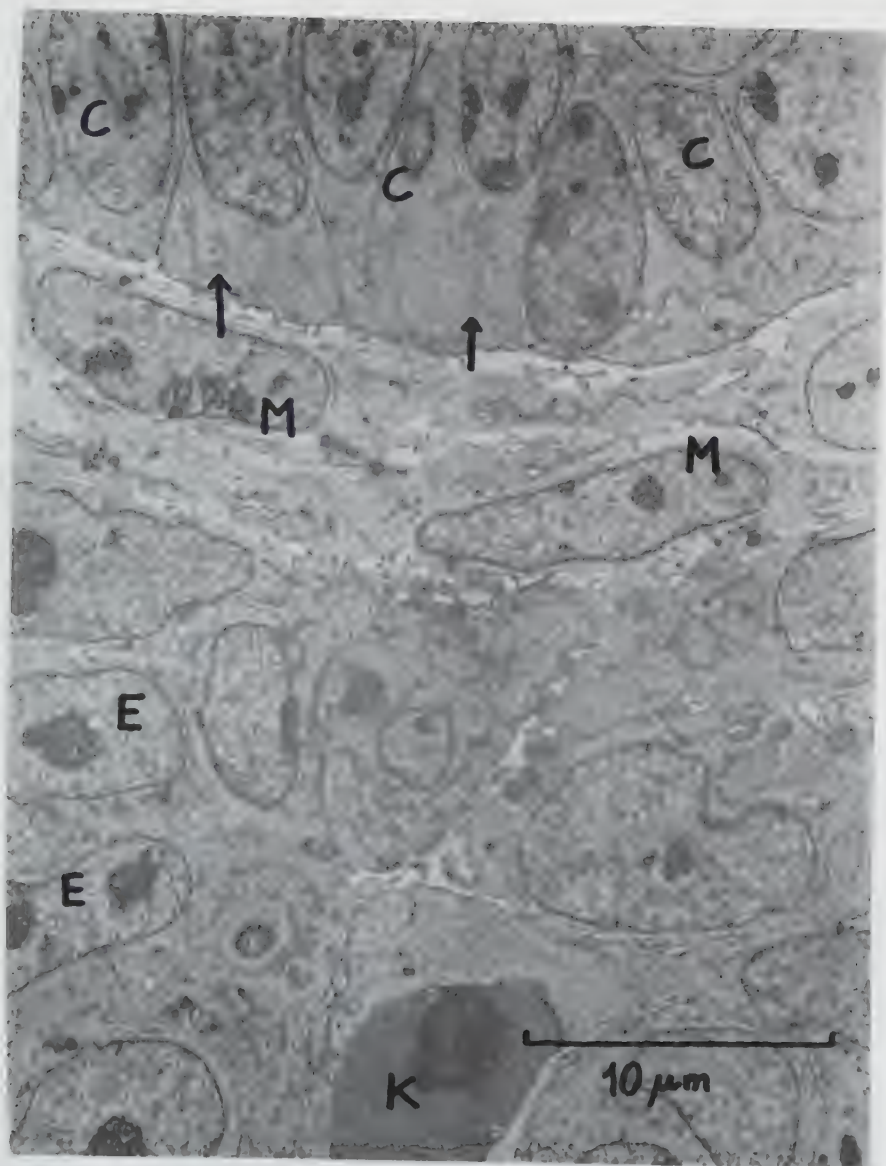


Abb. 9

Embryo Tag 11

Keimzellen (KZ) mit größeren, lockeren Mitochondrien (X) und einem helleren, homogenen Kern in einem epithel-ähnlichen Zellverband (E). In der Nähe der Keimzellen jedoch liegen diese Zellen immer angedeutet schalenförmig (*) um die KZ.

Lehrb. : 1976

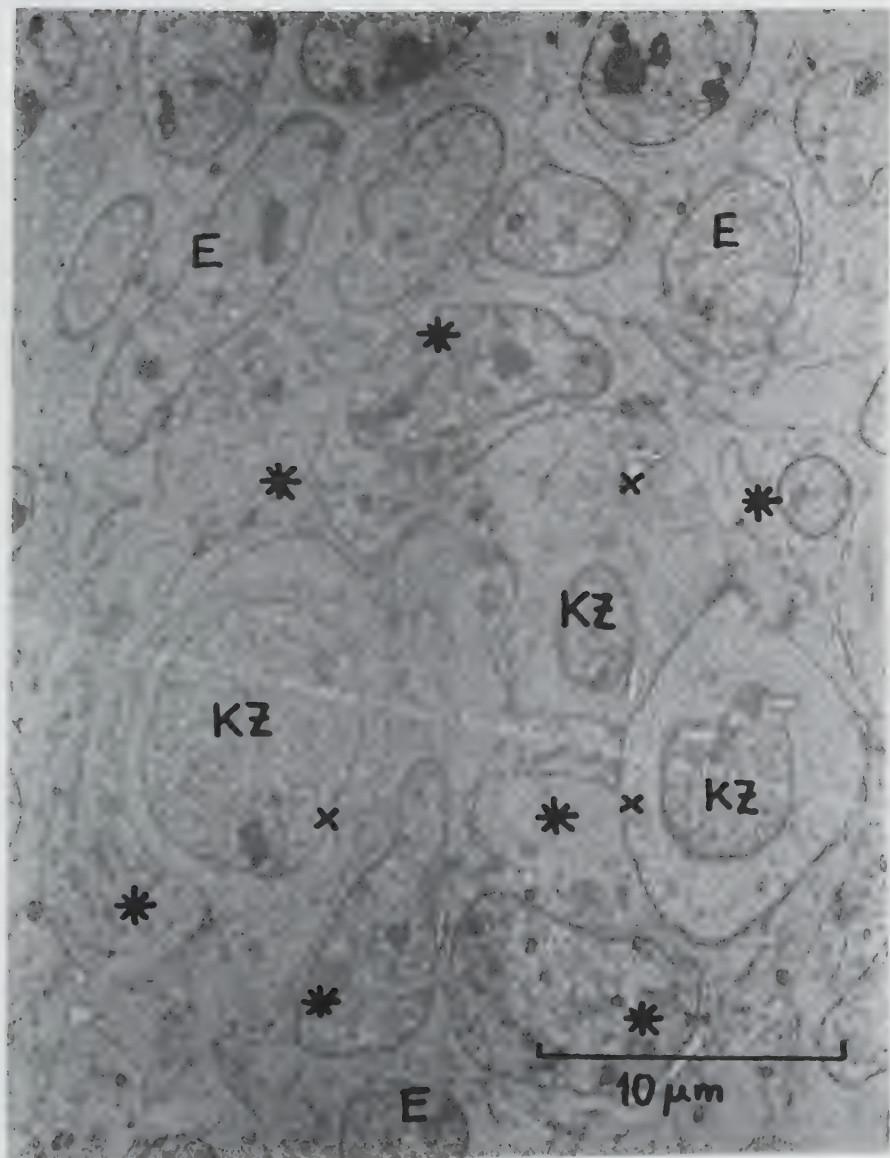


Abb. 10

Embryo Tag 11

Keimzellen (KZ) mit großen, hellen Mitochondrien (X), aufgelockerten Kernen, die Membranen enthalten (Pfeil), dicht umschlossen von epithelähnlichen Zellen (*) ohne scharfe Grenze zur Umgebung.

Vergr. 1 : 14000

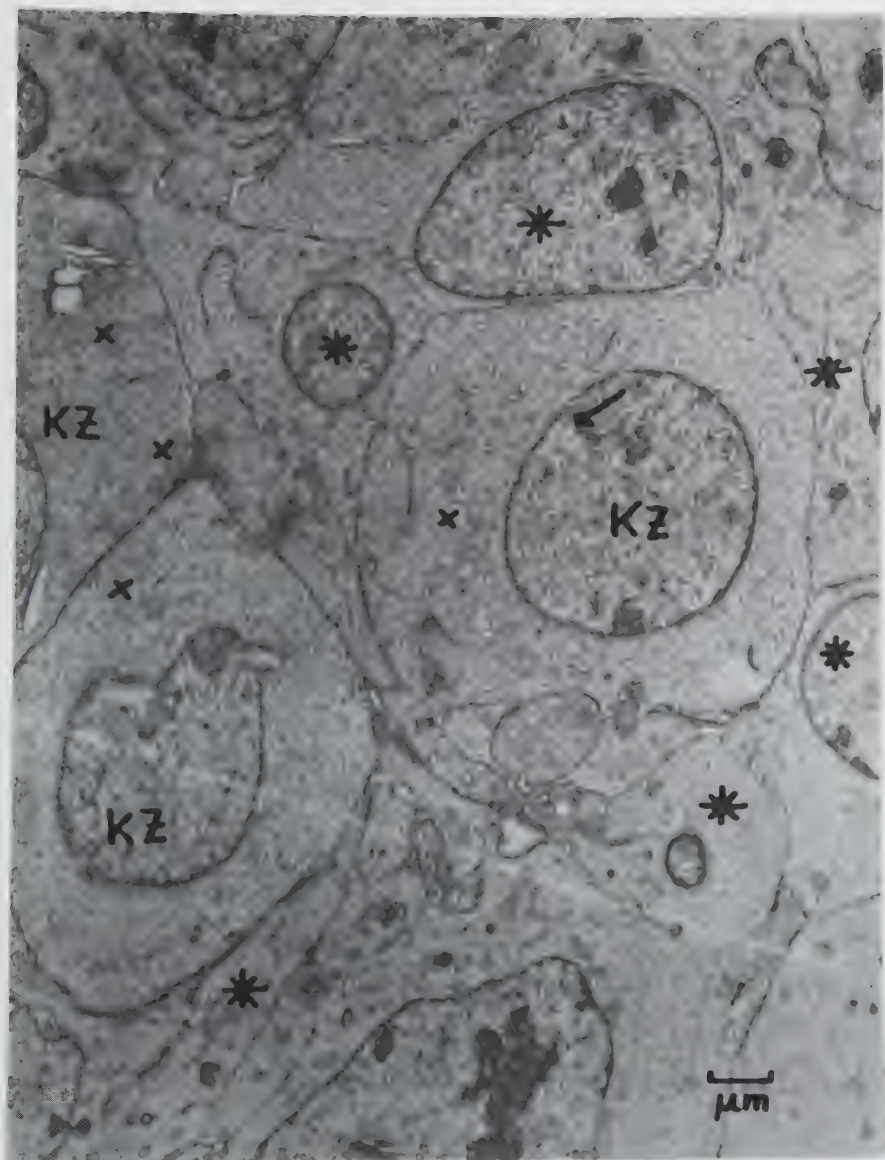


Abb. 11

Embryo Tag 11

Zwei Keimzellen kurz nach der Teilung mit großen Nukleoli (No) und Membranen (Pfeil) in den aufgelockerten Kernen, großen Mitochondrien (X), großem Golgi-Apparat (G) und dicht umhüllt von dicht gepackten, epithel-ähnlichen Zellen (*).

Vergr. 1 : 18000

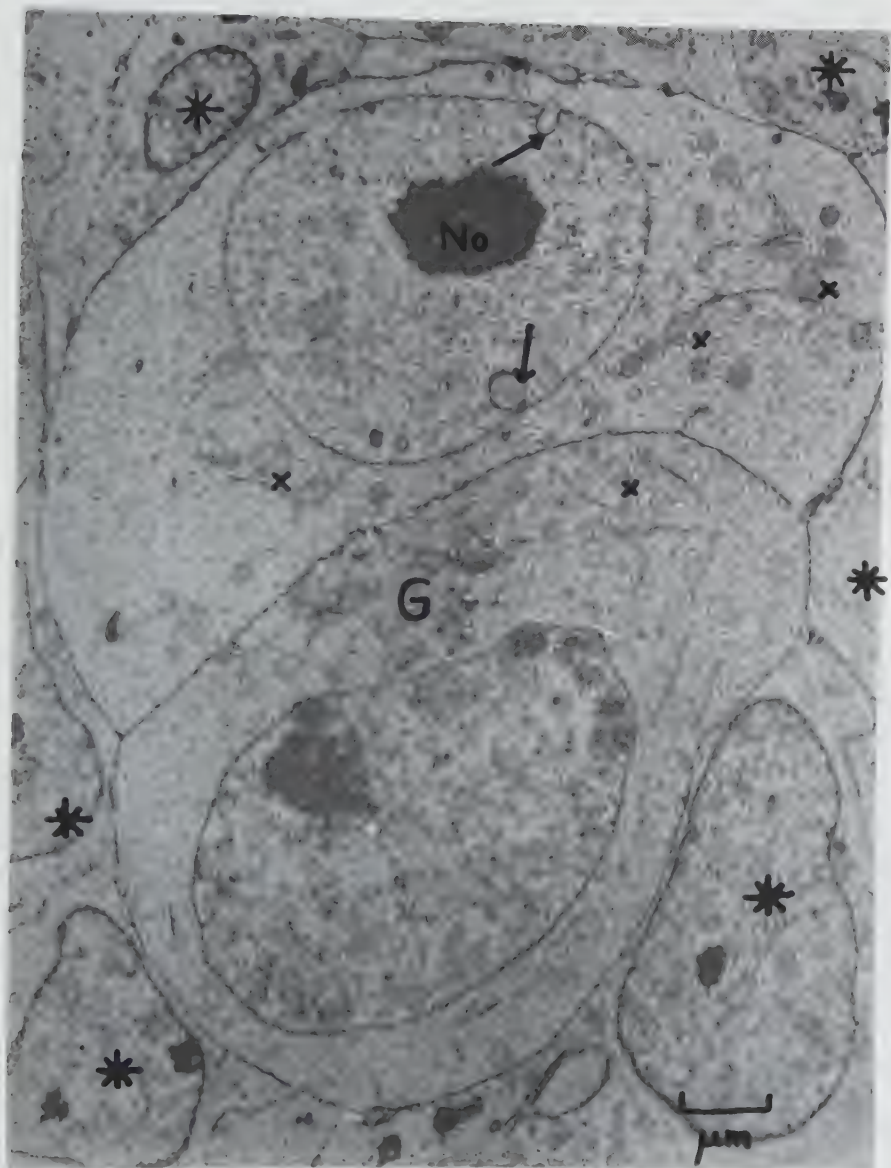


Abb. 12

Embryo Tag 12

Keimzelle mit großem Kern und Nukleolus (No) sowie großen, vesikelhaltigen Mitochondrien (↓). Umschriebene Kontakte (↓) mit schalenförmig lokalisierten Epithelzellen (E). Keine Abgrenzung zum umgebenden Mesenchym (*).

Vergr. 1 : 32000

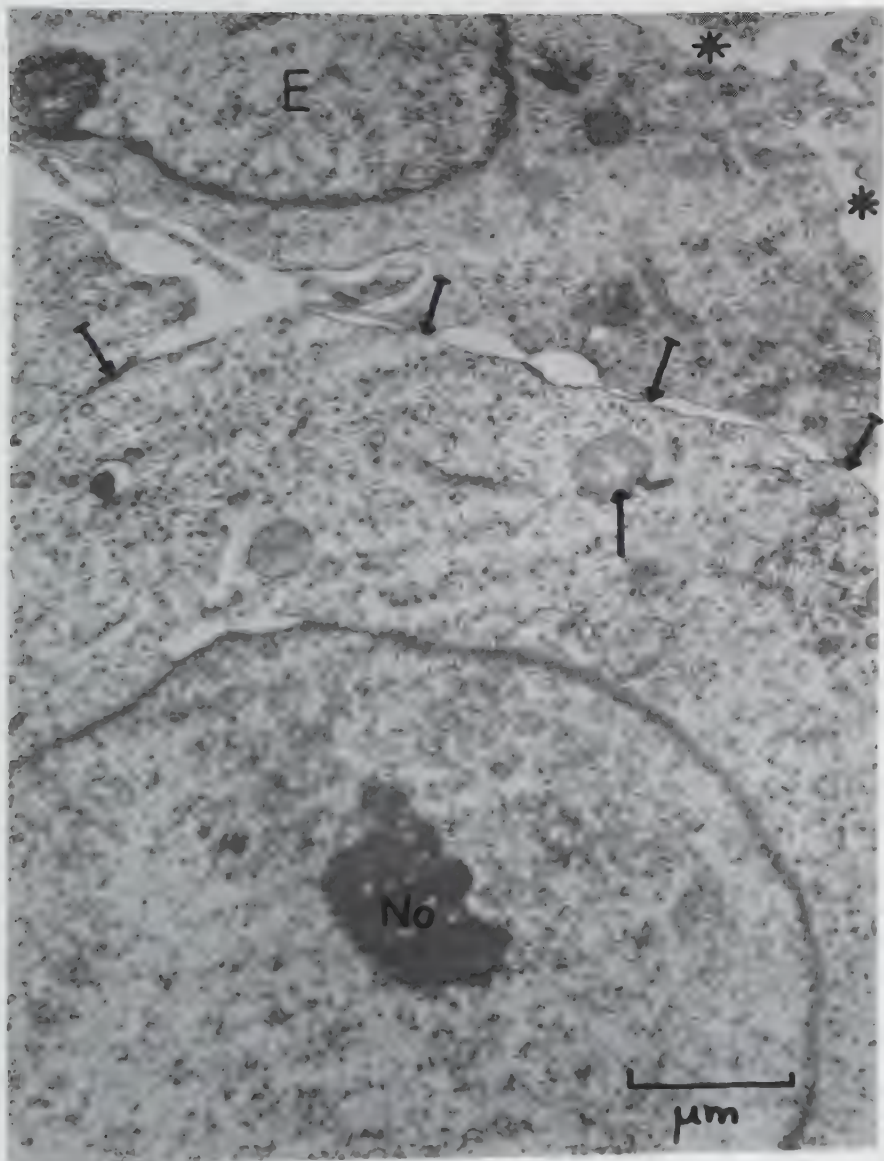


Abb. 13

Embryo Tag 12

Keimzelle (KZ) mit angedeutet schalenförmiger Umgrenzung (*). Kontakte dieser Zellen zur Keimzelle (↓). Keine Abgrenzung zum Gewebe der Umgebung (↓). Keine Strukturen im Interzellularraum.

Vergr. 1 : 21000

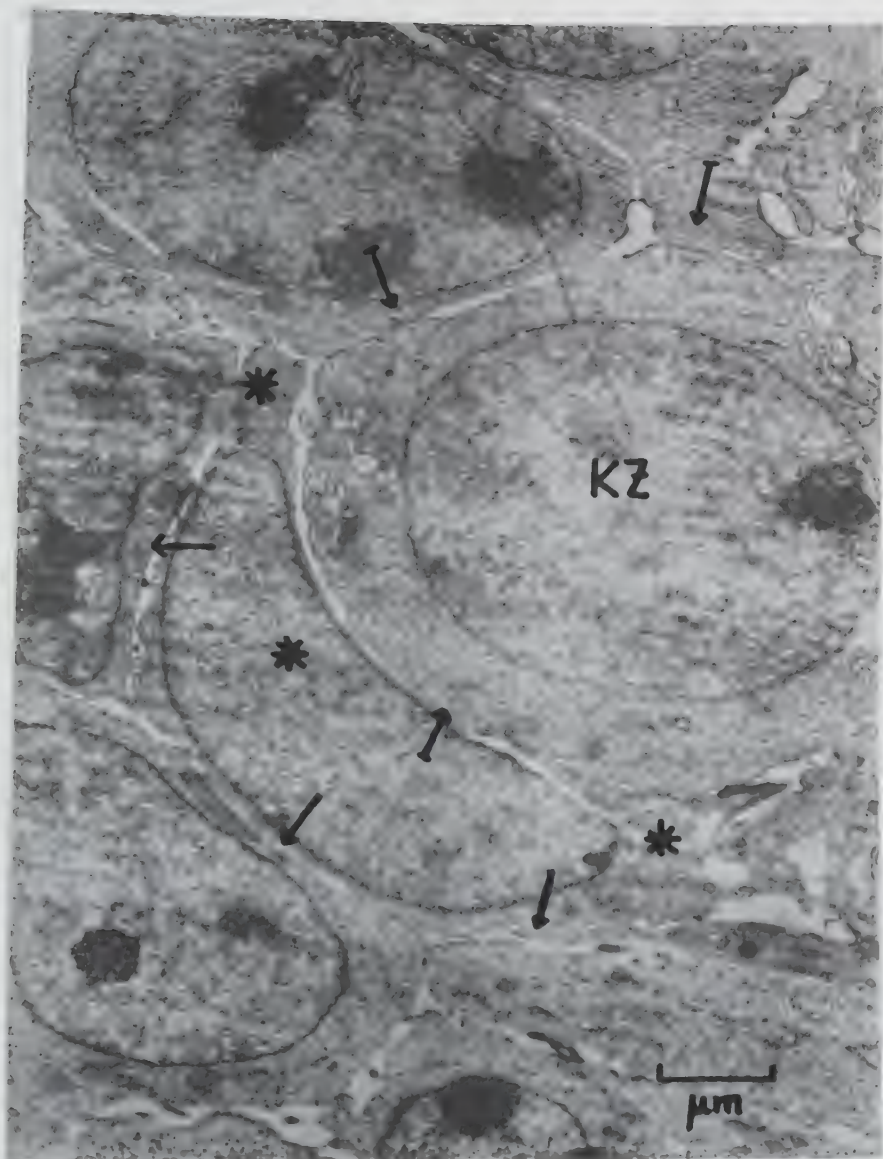


Abb. 14

Embryo Tag 13

Keimzelle (KZ) mit runden, vesikelhaltigen Mitochondrien (X), schalenförmig abgegrenzt durch flache, gestreckte Zellen (*). Keine Abgrenzung gegen das Gewebe der Umgebung. Nur bei (↓) erstes Auftreten von feinen Filamenten an der Zellmembran.

I = Interzellularraum

Vergr. 1 : 21000

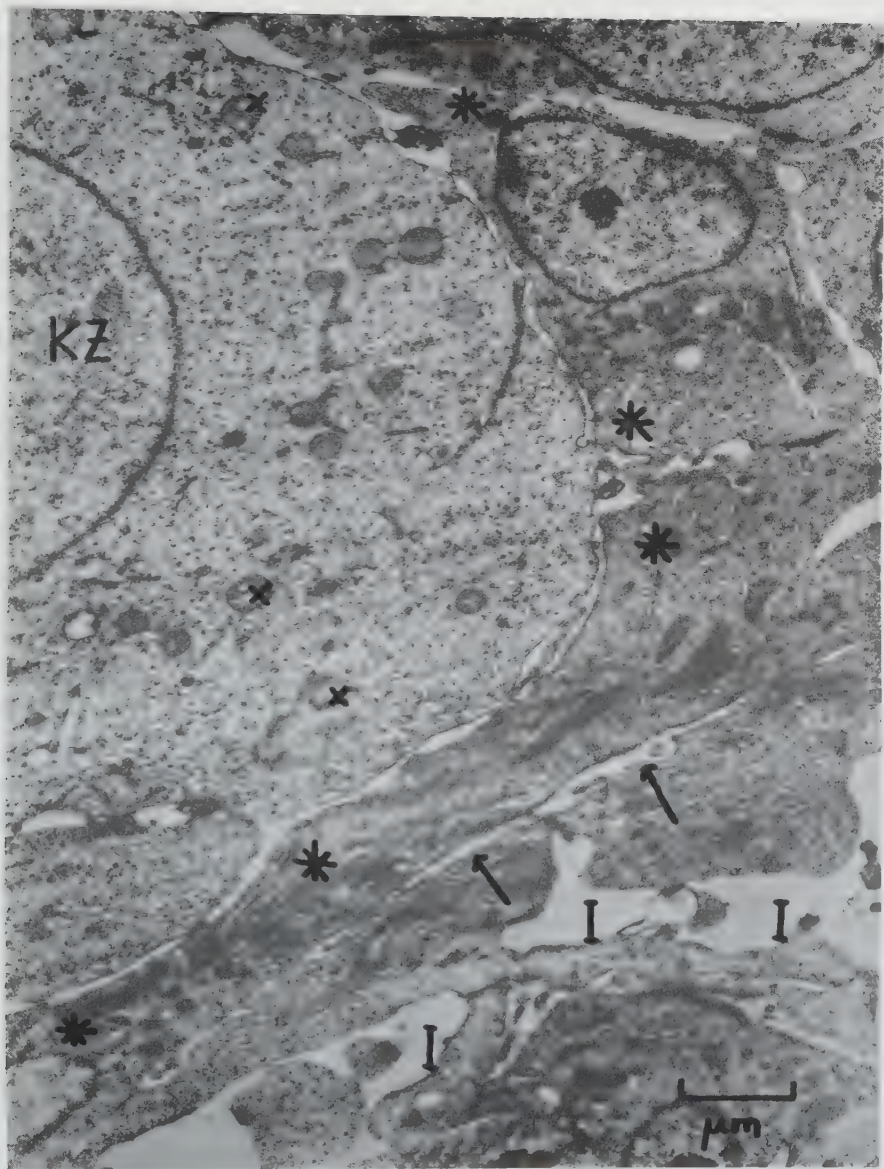


Abb. 15

Embryo Tag 13

Zwei Keimzellen (KZ_1 , KZ_2) mit typischen Mitochondrien (X) in dichtem Kontakt. Lockere Umscheidung durch flache, plattenförmige Zellen (*) ohne scharfe Grenze zur Umgebung.

Vergr. 1 : 35000

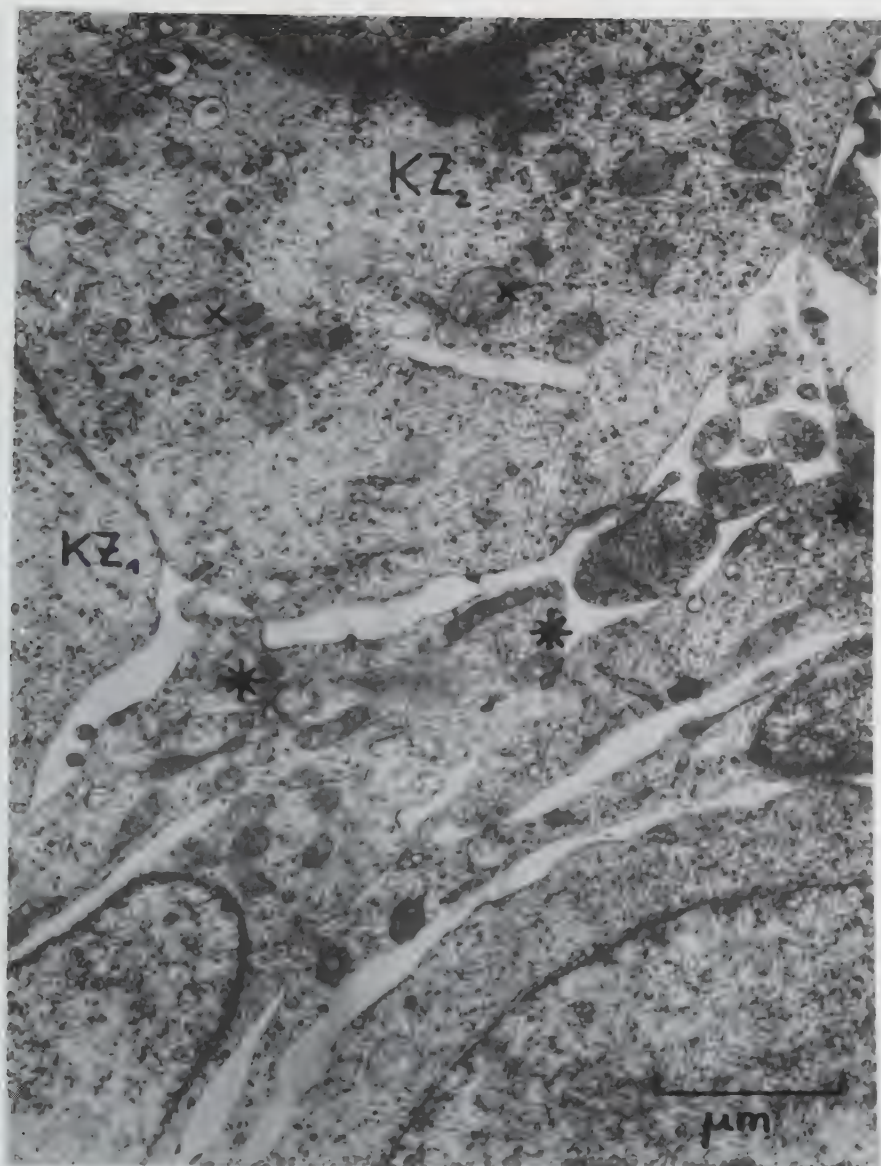


Abb. 16

Embryo Tag 13

Zwei Keimzellen (KZ_1 , KZ_2) mit typischen Mitochondrien (X). Umschriebener Kontakt ($\downarrow$) zwischen den Hüllzellen und der Keimzelle. Keine deutliche Abgrenzung gegen das Gewebe der Umgebung. Erstmals zarte Filamente im Interzellularraum ($\downarrow$).

Vergr. 1 : 25000

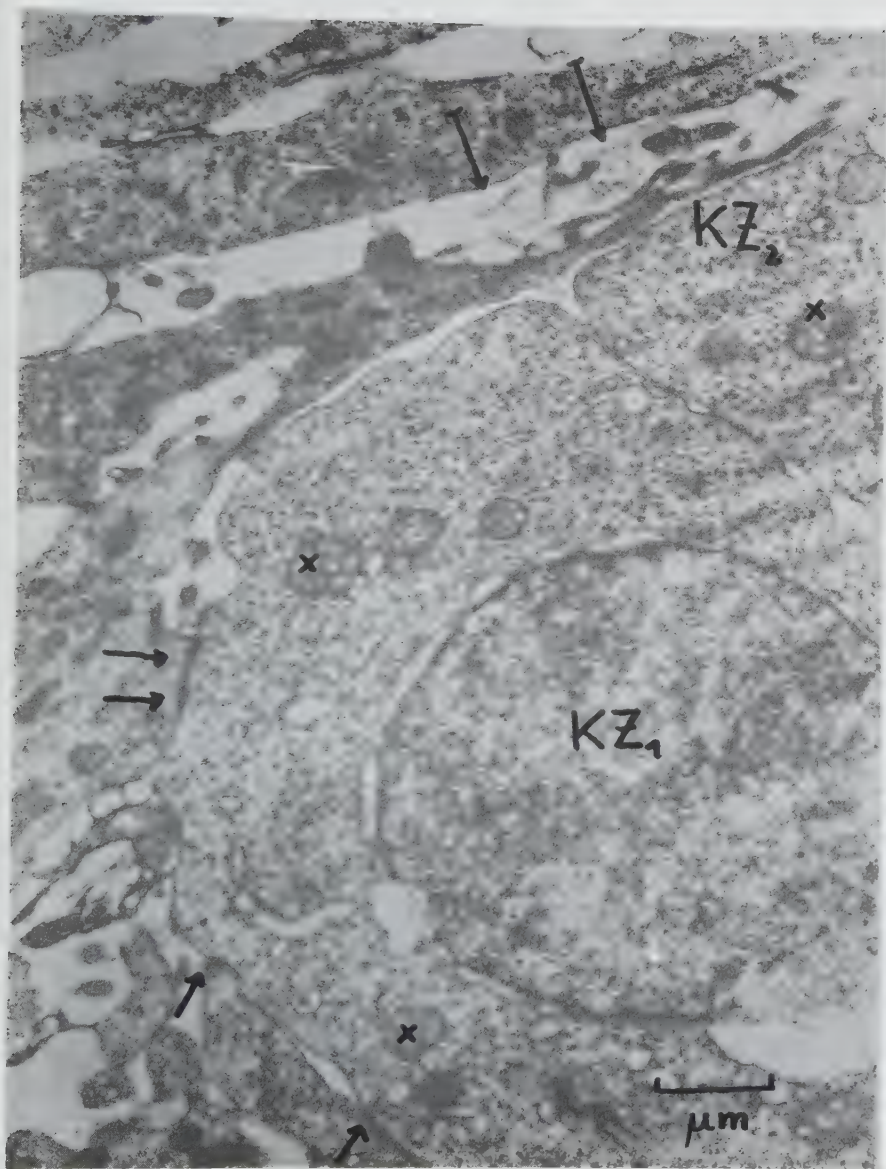


Abb. 17

Embryo Tag 13

Keimzelle (KZ) mit großem Kern sowie typischen Mitochondrien (X) und schalenförmiger Umscheidung (*) durch Hüllzellen. Beginn feinfilamentärer Ablagerung (Basalmembranbildung) im Interzellularraum (↓).

Vergr. 1 : 22500

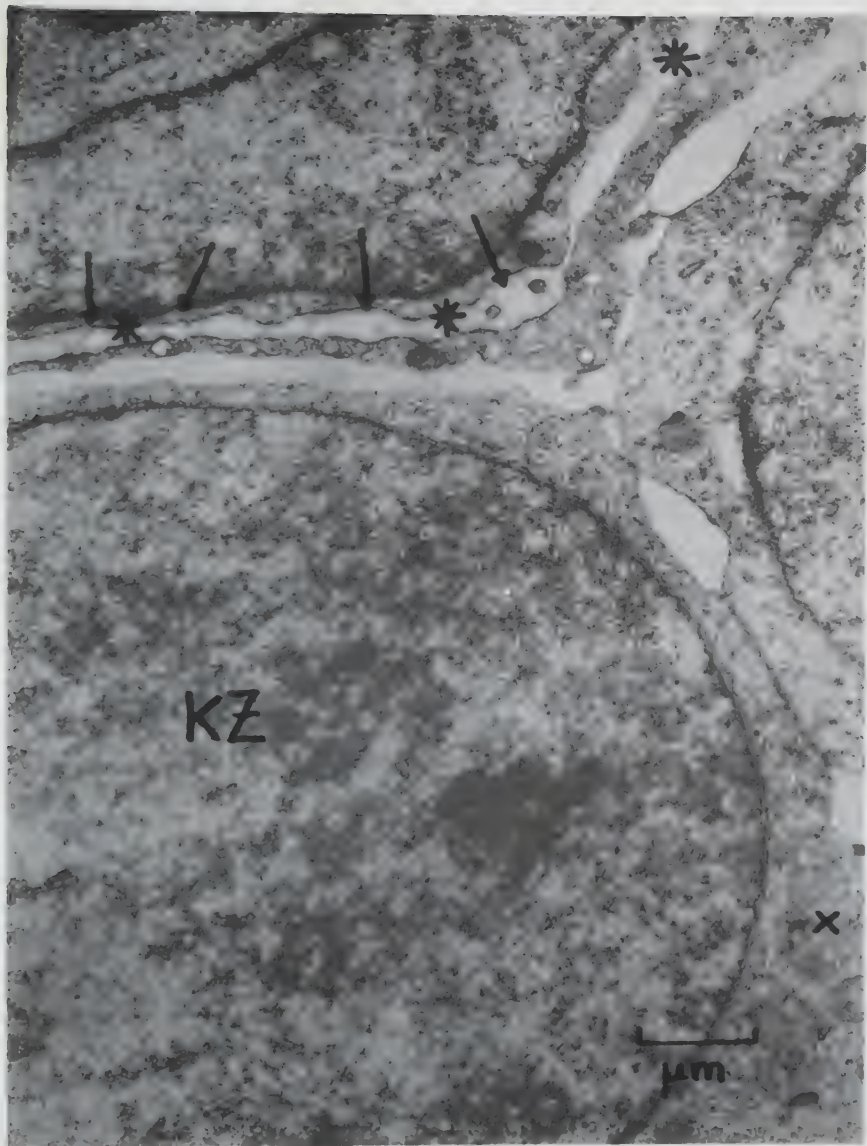


Abb. 18

Embryo Tag 14

Tangentialschnitt durch einen Follikel, der jetzt deutlich durch weite Interzellularräume (I) abgegrenzt ist. Beginnende Basalmembranbildung an der Peripherie des Epithels (↓).

Vergr. 1 : 21000

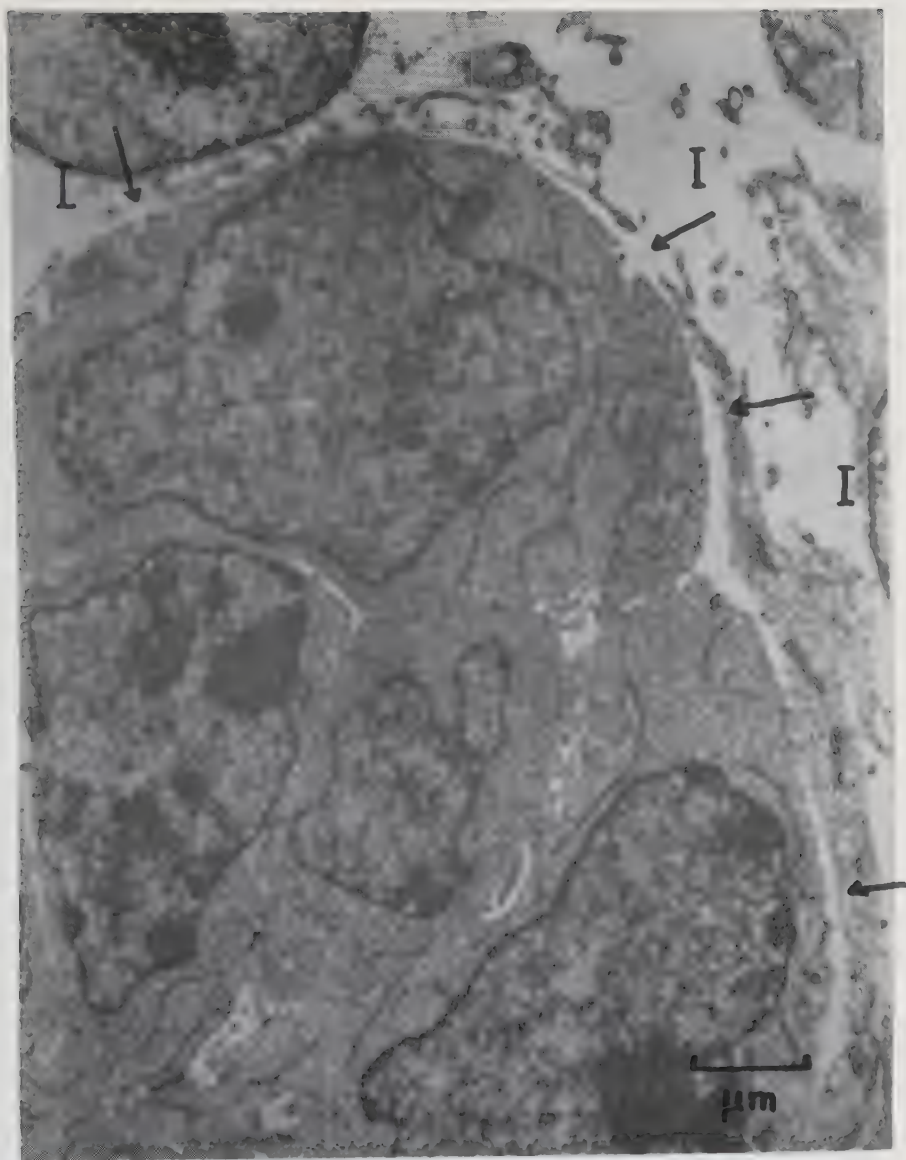
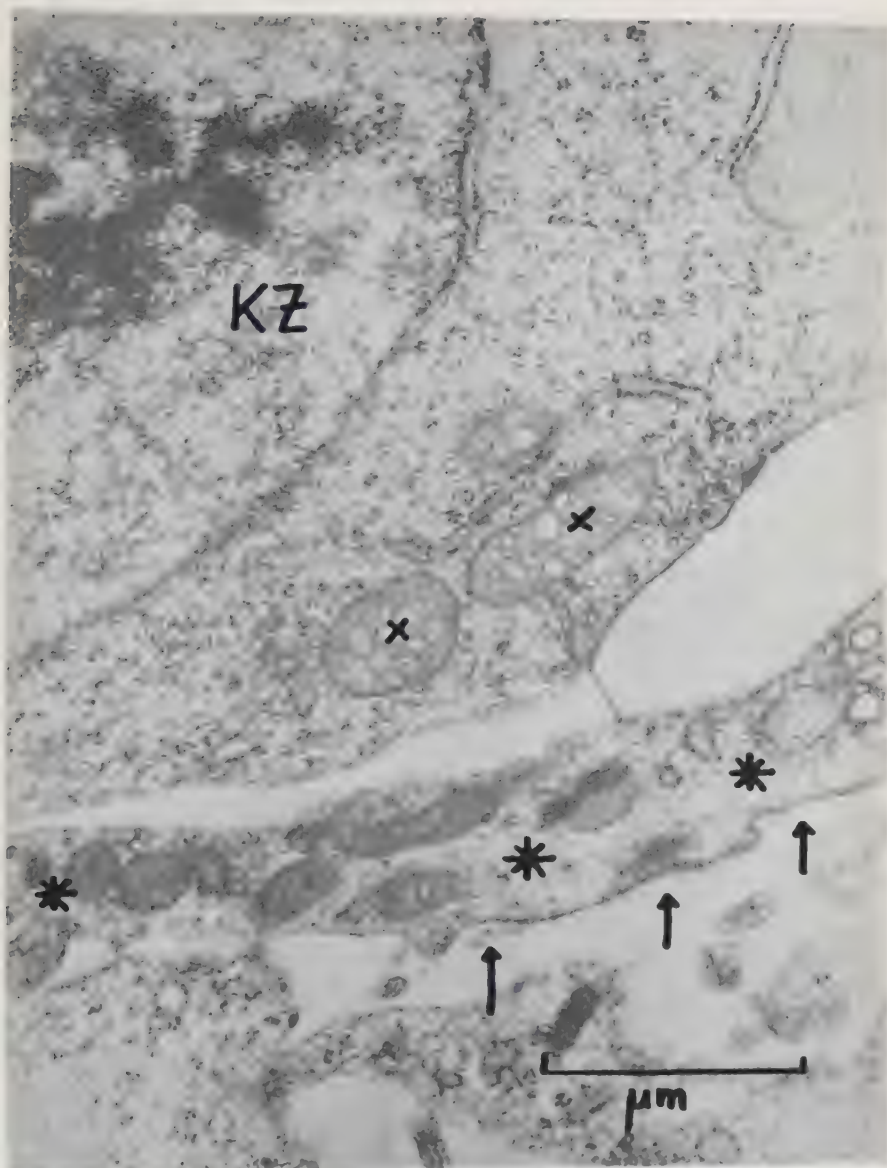


Abb. 19

Embryo Tag 14

Keimzelle (KZ) mit typischen Mitochondrien (X),
abgegrenzt durch eine flache Hüllzelle (*~~o~~) mit
vielen Mitochondrien. An der äußeren Zellmembran
der Hüllzelle beginnende feinfilamentäre Basal-
membranbildung (↓).

Vergr. 1 : 50000



Lebenslauf

Am 27. 1. 1950 wurde ich als Tochter des Verwaltungsdirektors Fritz Schaletzke und seiner Ehefrau Ursula Schaletzke, geb. Schröer, in Berlin-Schmargendorf geboren.

Von 1956 bis 1960 besuchte ich die Johann-Peter-Hebel-Schule (Grundschule) in Berlin-Wilmersdorf, von 1960 bis 1969 das Goethe-Gymnasium, grundständiges humanistisches Gymnasium, ebenfalls in Berlin-Wilmersdorf, wo ich im Februar 1969 die Reifeprüfung bestand.

Von April 1969 bis Februar 1975 studierte ich Humanmedizin an der Freien Universität Berlin und beendete dort am 7. 2. 1975 das medizinische Staatsexamen mit der Note "sehr gut".

Während meiner Tätigkeit als studentische Hilfskraft am II. Anatomischen Institut fertigte ich unter der Leitung von Prof. Dr. Merker die vorliegende Doktorarbeit an.

Herrn Prof. Merker danke ich für die Überlassung des Themas und die freundliche Hilfe.

Ebenfalls danken möchte ich den Mitarbeiterinnen des II. Anatomischen Institutes, die mich bei meiner Arbeit unterstützt haben.

